

APOSTILASMEDICINA@HOTMAIL.COM

PROFESSOR: http://lista.mercadolivre.com.br/Custid_161477952

Gilberto Barbante Kerbauy

Fisiologia Vegetal

2ª Edição



GUANABARA



KOOGAN

Fisiologia Vegetal

Fisiologia Vegetal

Gilberto Barbante Kerbauy

*Professor Titular do Departamento de
Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de
São Paulo, São Paulo, SP*

Segunda Edição



GUANABARA  KOOGAN

O autor e a editora empenharam-se para citar adequadamente e dar o devido crédito a todos os detentores dos direitos autorais de qualquer material utilizado neste livro, dispondo-se a possíveis acertos caso, inadvertidamente, a identificação de algum deles tenha sido omitida.

Direitos exclusivos para a língua portuguesa

Copyright © 2008 by

EDITORA GUANABARA KOOGAN LTDA.

Uma editora integrante do GEN | Grupo Editorial Nacional

Reservados todos os direitos. É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, distribuição na internet ou outros), sem permissão expressa da editora.

Travessa do Ouvidor, 11
Rio de Janeiro, RJ — CEP 20040-040
Tel.: 21-3543-0770 / 11-5080-0770
Fax: 21-3543-0896
ltc@grupogen.com.br
www.ltceditora.com.br

Capa: Cenário da exuberância pulsante da Mata Atlântica tomado na Serra dos Órgãos — Rio de Janeiro —, donde despontam, sob um manto de névoa, plantas de *Vriesia heterostachys* (Bromeliaceae), samambaias e musgos, formando um tapete vivo ao longo de um tronco (Foto de Luiz Cláudio Marigo).

Editoração Eletrônica: ALSAN – Serviço de Editoração

**CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA FONTE
SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ**

K47f
2.ed.

Kerbauy, Gilberto Barbante
Fisiologia vegetal / Gilberto Barbante Kerbauy. – 2.ed. – Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2008.
il. ;

Inclui bibliografia
ISBN 978-85-277-1445-7

1. Fisiologia vegetal. I. Título.

08-1305.

CDD: 571.2
CDU: 581.1

03.04.08

04.04.08

006057

Dedicatória

Aos meus pais, e à memória de meus avós,
que sabiam quando semear e como cultivar, dedico.

Agradecimentos

Às gerações de pesquisadores, que, ao longo de suas vidas,
no silêncio inquieto dos laboratórios,
labutaram para desvendar os segredos recônditos das plantas.

Colaboradores

Alfredo Gui Ferreira

Professor Titular Aposentado do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

Aline Andréia Cavalari

Doutoranda do Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas, SP. Professora do Centro Universitário São Camilo, São Paulo, SP

Ana Paula Artimonte Vaz

Pesquisadora-Doutora da Embrapa Transferência de Tecnologia — Escritório de Negócios de Campinas, EMBRAPA, Campinas, SP

Arnoldo Rocha Façanha

Professor Associado do Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Arthur Germano Fett-Neto

Professor Titular do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

Denis Ubeda de Lima

Pesquisador-Doutor da Bayer Seeds Brasil, São Paulo, SP

Edison Paulo Chu

Pesquisador Científico-Doutor da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, SP

Eduardo Purgatto

Professor-Doutor do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Eliane Stacciarini-Seraphin

Professora Adjunta Aposentada do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO

Gilberto B. Kerbauy

Professor Titular do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Giovanna Bezerra da Silva

Doutoranda do Curso de Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, São Paulo, SP

Helenice Mercier

Professora Livre-Docente do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Henrique Pessoa dos Santos

Pesquisador-Doutor da Embrapa Uva e Vinho, EMBRAPA, Bento Gonçalves, RS

José Antonio Pimenta

Professor Adjunto do Departamento de Biologia Animal e Vegetal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR

Ladaslav Sodek

Professor Titular do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP

Lázara Cordeiro

Professora-Doutora do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP

Lázaro Eustáquio Pereira Peres

Professor-Doutor do Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP

Leonardo Barros Dobbs

Doutorando do Curso de Produção Vegetal da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Lilian Beatriz Penteado Zaidan

Pesquisadora Científica-Doutora da Seção de Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, SP

Luciano Freschi

Doutor pelo Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Luciano Pasqualoto Canellas

Professor Associado do Laboratório de Solos da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Manlio Silvestre Fernandes

Professor Adjunto do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

Marco Aurélio S. Tiné

Pós-Doutorando da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, SP

Marcos Silveira Buckeridge

Professor-Doutor do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Maria Aurineide Rodrigues

Doutora pelo Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Miguel José Minhoto

Professor-Mestre da Universidade do ABC, São Caetano, SP

Miguel Pedro Guerra

Professor Titular do Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC

Nidia Majerowicz

Professora Adjunta do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Biologia, Área de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

Rita de Cássia Leone Figueiredo-Ribeiro

Pesquisadora Científica-Doutora da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, SP

Sandra Colli

Professora Associada B do Departamento de Biologia Animal e Vegetal da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR

Sonia Regina de Souza

Professora Adjunta do Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

Victor José Mendes Cardoso

Professor Adjunto do Departamento de Botânica da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP

Vilma Palazetti de Almeida

Professora-Doutora do Departamento de Morfologia e Patologia da Pontifícia Universidade Católica, *Campus* Sorocaba, SP

Prefácio da Segunda Edição

Seria para nós falsa modéstia se negássemos o sentimento misto de surpresa e satisfação com que recebemos a notícia do esgotamento da primeira edição deste livro; na verdade, bem antes do que imaginávamos, tendo em vista o competitivo mercado editorial nessa área particular da ciência das plantas.

Sob um olhar retrospectivo, é perceptível para nós, autores e coordenador, que um bocado de experiências foi acumulado durante esse período, principalmente se levado em conta que, cerca apenas de quatro anos atrás, poderíamos ser considerados, respeitosa e humildemente, autores plenos de boas intenções, porém ainda algo neófitos nesse tipo especial de publicação. Foi com base justamente nessas experiências que passamos a envidar os esforços necessários à inclusão dos novos conhecimentos oriundos das pesquisas em Fisiologia Vegetal nesse breve interregno. Esses, sem dúvidas, foram muitos e relevantes. Conforme já ocorrido na edição anterior, utilizando-se mais uma vez das vivências didáticas rotineiras, os autores esforçaram-se em disponibilizar o crescente grau de complexidade adquirido numa linguagem compreensível aos olhos dos leitores em geral. Espero que tenhamos tido sucesso nessa empreitada “descomplicadora”.

Quinze capítulos foram atualizados e/ou modificados por inteiro, e dois novos capítulos foram agora incluídos: Parede Celular e Frutificação e Amadurecimento. As paredes celulares, juntamente com os cloroplastos, representam os constituintes mais característicos e proeminentes da célula vegetal. A despeito de sua natureza aparentemente inerte, reconhece-se atualmente que essas estruturas envoltórias das células participam de funções variadas, todas de extrema importância para as plantas, como é o caso, por exemplo, da sustentação, da regulação do balanço hídrico, do crescimento celular, da proteção, do amadurecimento de frutos carnosos, da abscisão de órgãos etc. Não tivesse a seleção natural atuado sobre as mesmas durante o processo evolutivo, modificando-as, não teriam as plantas conquistado o ambiente terrestre, como nem nós seres humanos existiríamos para falar a respeito delas.

O capítulo Frutificação e Amadurecimento fez-se necessário diante de uma antiga carência de textos que contemplassem ambos os eventos de forma sistematizada, especialmente o

primeiro. Para tanto, esse foi abordado sob diferentes níveis de conhecimento, iniciando-se pela origem evolutiva dos frutos como folhas primitivas modificadas, seguida pelo papel da polinização como fator desencadeador da frutificação e sua subsequente progressão, finalizando então com a maturação. No contexto desta nova edição, o estudo dos frutos como órgãos de armazenamento de importância insofismável ao Homem veio se somar aos capítulos de tuberização e germinação de sementes, cobrindo-se assim os estudos das três principais estruturas acumuladoras de reservas das plantas.

Finalizada esta nova edição, foi para nós inevitável comparar o estado da arte da Fisiologia Vegetal nos dias presentes com seu equivalente de cerca de três décadas passadas. Por essa perspectiva histórica, constata-se, limpidamente, o imenso incremento de conhecimentos verificado nesse período. Para tanto, a Física e a Bioquímica, num primeiro momento, e a Biologia Molecular, mais recentemente, tiveram papel capital nessa alavancagem sensacional. Para melhor aquilatar esse progresso, seria conveniente lembrar que, antes do emprego rotineiro das mesmas, e durante um bom tempo, os estudos da Fisiologia Vegetal concentraram-se, em regra, no papel dos fatores ambientais sobre processos vitais das plantas como um todo. Essas ferramentas vieram possibilitar que se adentrasse, num primeiro movimento, o citoplasma e, num segundo passo, o interior do núcleo da célula e seus genes, perpassando nessa jornada suas complexas membranas envoltórias. De forma simplificada, poder-se-ia mesmo dizer que a Fisiologia Vegetal hodierna encontra-se voltada em desvendar a intrincada rede de mecanismos que integram entre si os distintos compartimentos celulares, sem perder de vista suas relações com os sinais ambientais, esses, a um só tempo, determinantes e modulatórios de todo o funcionamento das plantas como organismos sésseis que são.

Dessas pálidas considerações, decorre a ratificação de nossas convicções sobre a importância da Fisiologia Vegetal como ciência integradora, trazendo como reflexo imediato e inevitável o papel que os fisiologistas de plantas passaram a desempenhar com maior intensidade nos dias presentes, ancorados numa visão privilegiada do funcionamento integrado e harmônico das diferentes partes das plantas.

Prefácio da Primeira Edição

No presente ano, completa um quarto de século do lançamento da última obra de Fisiologia Vegetal escrita por autores brasileiros. Pena que não tenha sido atualizada. Todos saímos perdendo.

Ao longo desse prolongado interregno, a Fisiologia Vegetal experimentou um impulso inédito de mudanças extraordinárias, que acabaram desaguando em reposicionamentos nada desprezíveis de conceitos e paradigmas, alguns deles permeando o público em geral. Nesse contexto, estão aí, a título de exemplo, as extensas áreas de plantações clonadas *in vitro*, ou as ainda polêmicas plantas transgênicas, cujas obtenções dependem, inescapavelmente, de conhecimentos e práticas próprias da fisiologia organogenética, hormonal, nutricional, dentre outras de suas subáreas. Ocioso, talvez, fosse lembrar que esses avanços espetaculares não teriam sido verificados sem a participação de profissionais bem preparados, aptos a dar continuidade e profundidade às pesquisas sobre Fisiologia Vegetal, básica e aplicada. Felizmente, nosso país já possui um bom número deles. Se o Brasil desponta hoje no cenário internacional como um dos maiores e mais eficientes produtores agrícolas do mundo, isso se deve, em boa parte, ao conhecimento e à experiência posta em prática desses pesquisadores.

O presente livro insere-se na preocupação, já algo antiga, de disponibilizar, principalmente a estudantes de Agronomia, Biologia, Biologia Molecular, Bioquímica e Engenharia Florestal, bem como também a profissionais das áreas de pesquisa, ensino e produção agrícola, o atual estado da arte da Fisiologia Vegetal e suas perspectivas para um futuro próximo. Para tanto, buscaram-se, na experiência vivenciada por estudiosos de várias especialidades e de diferentes instituições científicas públicas brasileiras, os alicerces científicos e pedagógicos indispensáveis para atingir tais objetivos. Não fosse a experiência dessas instituições e o entusiasmo contagiante desses colegas, muito dificilmente teríamos como materializar, em bom nível, a presente obra.

Em qualquer dos capítulos, sem muito esforço, pode-se também aquilatar o quanto áreas como a Bioquímica, Biologia Molecular e Física vêm contribuindo para a expansão do conhecimento da Fisiologia Vegetal, num processo de interação sinér-

gica e recorrente. Em larga extensão, as interfaces dessas áreas apresentam-se, nos dias atuais, tão íntimas que chegam a embaçar os limites identificatórios de cada uma delas. Certamente, as células vegetais os desconhecem *in totum* desde os primórdios da evolução. Isso explica também por que está-se tornando cada vez mais raro encontrar trabalhos de pesquisa e livros de Fisiologia Vegetal ou de outras áreas assinados por um único autor. Como ciência experimental que é, a Fisiologia Vegetal é uma atividade inacabada, apenas com começo e meio. A cada nova descoberta, seguem-se várias novas e boas perguntas, numa dinâmica sem fim, claramente identificável em cada capítulo.

No que diz respeito à parte didática embutida nos capítulos, foi também alvissareira a percepção de que começa a se delinear no horizonte um ensino de fisiologia com características próprias, voltado às demandas do alunato brasileiro. Nesse sentido, explica-se por que, embora tenha-se procurado neste livro uma certa uniformização de conceitos e terminologia,* manteve-se, por outro lado, quase intocado o estilo de linguagem próprio de cada autor.

Antes de encerrar, gostaria de consignar neste espaço meus sinceros agradecimentos a todos os autores deste livro, meus colegas de profissão. Não poderia também deixar de mencionar os nomes das Dras. Elenice M. Varanda e Maria Helena de Oliveira e Souza, que, em boa hora, lançaram a idéia da publicação de textos especializados de Botânica em língua portuguesa. Ao meu xará e amigo Gilberto Muylaert Tinoco, um amante das epífitas brasileiras, meus agradecimentos pela maravilhosa aquarela da capa, para a qual conseguiu transferir, com a percepção peculiar dos grandes mestres, este cenário luxuriante da nossa Mata Atlântica.

São Paulo, 30 de maio de 2004

Gilberto Barbante Kerbauy

*N.A.: Devido à falta, ainda, de uma norma geral sobre a nomenclatura gênica, seu uso foi apenas minimamente uniformizado.

Conteúdo

1 RELAÇÕES HÍDRICAS, 1

José Antonio Pimenta

- Introdução, 1
- Estrutura e Propriedades Físico-químicas da Água, 2
 - Estrutura da Molécula de Água, 2
 - Propriedades Físicas e Químicas da Água, 4
 - Propriedade de Solvente, 4
 - Propriedades Térmicas, 4
 - Propriedades de Coesão e Adesão, 5
- Processos de Movimento da Água, 6
 - Fluxo em Massa, 6
 - Difusão, 6
 - Osmose, 7
- Potencial Químico, 8
- Potencial de Água, 9
 - Componentes do Potencial de Água, 10
 - Potencial de Pressão (Ψ_p), 10
 - Potencial Osmótico (Ψ_π), 10
 - Potencial Gravitacional (Ψ_g), 11
 - Potencial Mátrico ou Matricial (Ψ_m), 11
- Movimento da Água entre Células e Tecidos, 11
- Água no Solo, 13
- Absorção e Movimento Radial de Água nas Raízes, 15
- Movimento Ascendente de Água no Xilema, 17
 - Pressão Positiva da Raiz, 18
 - Capilaridade, 19
 - Teoria da Coesão e Tensão, 19
- Transpiração, 21
 - Força que Dirige a Transpiração, 23
 - Por que a Transpiração?, 24
- Fisiologia dos Estômatos, 25
 - Caracterização Geral dos Estômatos, 25
 - Mecanismos que Regulam o Movimento Estomático, 26
 - Controle do Movimento Estomático, 30
 - Água e Temperatura, 30
 - Dióxido de Carbono e Luz, 30
- Referências, 32
- Bibliografia Recomendada, 32

2 NUTRIÇÃO MINERAL, 33

Arnoldo Rocha Façanha, Luciano Pasqualoto Canellas e Leonardo Barros Dobbs

- Introdução, 33
- Critérios de Essencialidade, 34

- Elementos da Relação Solo-Planta, 36
- Sistemas de Transporte de Nutrientes das Células de Plantas, 40
- Controle de Fluxo dos Nutrientes, 42
- Dinâmica da Absorção de Nutrientes pelas Plantas, 44
 - Temperatura, 45
 - Umidade, 45
 - Aeração, 45
 - pH, 46
 - Interações Iônicas, 46
 - Micorrização, 46
- Função dos Íons e Sintomas de Excesso e de Carência, 47
 - Deficiência de Nitrogênio, 47
 - Deficiência de Fósforo, 47
 - Deficiência de Potássio, 47
 - Deficiência de Enxofre, 47
 - Deficiência de Magnésio, 48
 - Deficiência de Cálcio, 48
 - Deficiência de Boro, 49
 - Deficiência de Ferro, 49
 - Deficiência de Manganês, 49
 - Deficiência de Cobre, 49
 - Deficiência de Zinco, 49
 - Deficiência de Molibdênio, 49
 - Deficiência de Cloro, 50
 - Deficiência de Níquel, 50
- Referências, 50

3 FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO, 51

Lázara Cordeiro

- Ciclo do Nitrogênio, 51
- Fixação Biológica do Nitrogênio, 52
 - Formação do Nódulo, 54
 - Multiplicação do Rizóbio na Rizosfera e sua Adesão às Raízes, 55
 - Penetração do Rizóbio na Raiz e Formação da Corrente de Infecção, 56
 - Liberação do Rizóbio e Desenvolvimento dos Nódulos, 57
 - Bioquímica e Fisiologia da Fixação do Nitrogênio, 60
- Referências, 63
- Bibliografia Recomendada, 64

4 METABOLISMO DO NITROGÊNIO, 65*Ladaslav Sodek*

- Introdução, 65
- Absorção do N Inorgânico do Solo, 65
- Redução do NO_3^- , 67
 - Regulação da Enzima, 67
 - Fotossíntese e a Assimilação de NO_3^- , 69
- Assimilação de NH_4^+ e o Ciclo da Sintase do Glutamato, 69
- Transporte do N, 71
- Utilização do N Transportado nos Sítios de Consumo, 73
- Aminotransferases, 73
- Biossíntese de Aminoácidos, 74
 - Família do Aspartato: Treonina, Lisina, Metionina, Isoleucina e Asparagina, 74
 - Família dos Aminoácidos Aromáticos: Fenilalanina, Tirosina e Triptofano, 76
 - Família do Glutamato: Prolina, Arginina e Glutamina, 77
 - Família do Piruvato: Leucina, Valina e Alanina, 78
 - Família do 3-fosfoglicerato: Serina, Glicina e Cisteína, 78
 - Família da Ribose-5-fosfato: Histidina, 80
- Assimilação do Enxofre, 80
- Bibliografia Recomendada, 80

5 FOTOSSÍNTESE, 82*Nidia Majerowicz*

- O que Move a Vida?, 82
- Fotossíntese: Um Processo de Oxidação-Redução, 83
- Fotossíntese: Um Processo em Duas Etapas, 83
- Estrutura da Máquina Fotossintética, 86
 - As Folhas, 86
 - Os Cloroplastos, 88
- A Conversão da Luz em Energia Química, 88
 - Luz: A Energia que Impulsiona a Fotossíntese, 88
 - A Natureza Física da Luz, 89
 - Luz e Pigmentos: Absorção e Destino da Energia de Excitação Eletrônica, 91
 - O que Acontece Quando os Pigmentos Absorvem Luz?, 91
- Os Pigmentos Fotossintéticos, 93
- O Fluxo Fotossintético de Elétrons e a Fotoxidação da Água, 93
 - O Fotossistema II, 95
 - A Fotoxidação da Água, 96
 - O Fotossistema I, 98
- A Fotofosforilação, 99
 - Fotofosforilação Não-cíclica, Cíclica e Pseudocíclica, 99
- Transporte de Elétrons e Herbicidas, 101
 - Os Complexos Supramoleculares nas Membranas dos Tilacóides: Estrutura e Regulação, 102
- Metabolismo do Carbono na Fotossíntese, 103

- A Rubisco, 105
- O Ciclo C_3 (Ciclo de Calvin-Benson), 106
 - Etapas do Ciclo C_3 , 106
 - Ciclo Autocatalítico, 106
 - Balço Energético do Ciclo C_3 , 108
 - Regulação do Ciclo C_3 , 108
- A Fotorrespiração e o Ciclo C_2 , 110
 - O Ciclo C_2 , 111
 - Fatores que Afetam as Taxas de Fotorrespiração, 113
 - O Papel da Fotorrespiração, 113
- Mecanismos Fotossintéticos de Concentração de CO_2 , 114
 - Mecanismo C_4 , 114
 - Mecanismo MAC (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), 117
 - A PEP Carboxilase, 120
 - O Destino dos Produtos da Fotossíntese, 120
- Aspectos Ecofisiológicos Associados à Fotossíntese, 124
 - Fotossíntese Líquida (F_L), 125
 - Fotossíntese Líquida e Disponibilidade de CO_2 , 125
 - Fotossíntese e Eficiência no Uso da Água, 127
 - Respostas Fotossintéticas à Luz, 127
 - Plantas de Sol e de Sombra, 128
 - Resposta Fotossintética à Temperatura Foliar, 129
 - Eficiência de Uso do Nitrogênio, 129
 - Fotossíntese e Produtividade em Comunidades Vegetais, 130
 - Fotossíntese por Unidade de Área Foliar (F_L) e Produtividade, 130
 - Taxas de Respiração Celular e Produtividade, 130
 - Produtividade e Arquitetura do Dossel, 131
 - Fotossíntese e Produtividade Econômica das Culturas, 132
 - Agradecimentos, 132
- Referências, 132
- Bibliografia Recomendada, 133

6 TRANSPORTE NO FLOEMA, 134*Manlio Silvestre Fernandes e Sonia Regina de Souza*

- Visão Geral do Sistema de Transporte no Floema, 134
- Constituição dos Elementos Crivados e Células Companheiras, 136
 - Os Elementos Crivados (EC), 136
 - As Células Companheiras (CC), 137
- Vias Apoplástica e Simplástica, 137
 - Apoplasma, 138
 - Simplasma e Plasmodesma, 138
 - Transporte Intermediário, 140
- Carregamento e Descarregamento do Floema, 140
 - Transporte de Sacarose, 142
 - Bombas de Prótons, 142
- Visão Geral do Carregamento e Descarregamento do Floema, 143
- O que é Transportado, 145

Açúcares, 145
Outros Elementos Transportados, 146
Saída de Sacarose, 146
Transporte Fonte–Dreno, 147
Referências, 149
Bibliografia Recomendada, 149

7 RESPIRAÇÃO, 150

*Marcos S. Buckeridge, Marco Aurélio S. Tiné,
Miguel José Minhoto e Denis Ubeda de Lima*

Introdução, 150
O Fluxo de Carbono na Célula, 151
Glicólise, 151
Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos (CAT) ou Ciclo de Krebs, 152
Cadeia de Transporte de Elétrons, 155
Via da Ubiquinona ou Via Alternativa de Transporte de Elétrons, 156
Fermentação, 157
O Fluxo Respiratório Varia com o Estado Fisiológico da Célula, 157
Respiração nos Tecidos e Órgãos, 159
Raízes, 159
Caule, 159
Folhas, 160
Flores e Frutos, 160
Sementes, 161
Controle da Respiração nas Plantas por Fatores Internos, 161
Disponibilidade de Substrato, 161
Quantidade de Oxigênio, 162
Temperatura, 163
Ferimentos e Lesões, 163
Respiração na Planta Inteira, 163
A Ecofisiologia e a Respiração, 164
Bibliografia Recomendada, 164

8 PAREDE CELULAR, 165

*Marcos Silveira Buckeridge, Aline Andréia Cavalari e
Giovanna Bezerra da Silva*

Introdução, 165
A Parede Celular, 166
A Química e a Bioquímica da Parede Celular, 167
Celulose, 167
Hemiceluloses, 167
Pectinas, 171
Proteínas, 172
Compostos Fenólicos, 173
Propriedades Físicas da Parede Celular e Suas Relações com Funções e Papéis Biológicos, 174
Modelos da Parede Celular Vegetal, 174
Funções e Papéis Biológicos da Parede Celular, 176
Parede Celular e a Biotecnologia, 180
A Importância Ambiental da Parede Celular, 180
Referências, 181

9 AUXINAS, 182

Helenice Mercier

Introdução, 182
Histórico da Descoberta, 182
Auxinas Naturais e Sintéticas, 183
Metabolismo do AIA, 184
Biossíntese do AIA, 184
Conjugação do AIA, 186
Degradação do AIA, 187
Transporte Polar das Auxinas, 187
Teoria Quimiosmótica, 188
Efeitos Fisiológicos das Auxinas, 191
Divisão, Crescimento e Diferenciação Celular, 191
Divisão Celular, 191
Expansão/Alongamento Celular, 192
Hipótese do Crescimento Ácido, 194
Continuidade do Crescimento, 195
Diferenciação Celular, 196
Desenvolvimento do Eixo Caulinar, 197
Quebra da Dominância Apical e Crescimento da Gema Axilar, 197
Formação dos Primórdios Foliares e Filotaxia, 199
Formação do Gancho Apical, 200
Desenvolvimento Radicular, 201
Desenvolvimento de Flores e Frutos, 203
Abscisão Foliar, 205
Ação Herbicida de Auxinas Sintéticas, 207
Mecanismo de Ação, 207
Percepção, 207
Transdução, 208
Expressão Gênica, 208
Agradecimentos, 210
Referências, 210

10 CITOCININAS, 212

Lázaro Eustáquio Pereira Peres e Gilberto B. Kerbauy

Introdução, 212
Dinâmica das Citocininas na Célula e no Vegetal
Como um Todo, 214
Biossíntese, 214
Conjugação e Hidrólise, 216
Oxidação, 218
Transporte, 220
Modo de Ação das Citocininas, 220
Percepção e Transdução de Sinal, 221
Alvos Primários das Citocininas, 222
Divisão Celular, 222
Diferenciação Celular, 223
Estabelecimento de Drenos, 223
Retardamento da Senescência Foliar, 223
Fotomorfogênese, 225
Efeitos das Citocininas, 225
Interação com Outras Classes Hormonais, 226
Balanço Auxina/Citocinina e o Desenvolvimento Vegetal, 227

Citocininas na Interação Entre os Vegetais e o Ambiente, 230
Luz, 230
Nutrientes Minerais, 230
Temperatura, 231
Interação com Microorganismos, 231

Citocininas e Biotecnologia, 231
Conclusões e Perspectivas, 233
Referências, 233
Bibliografia Recomendada, 234

11 GIBERELINAS, 235

Miguel Pedro Guerra e Maria Aurineide Rodrigues

Introdução, 235
Histórico e Ocorrência, 235
Biossíntese, 236
Principais Locais de Biossíntese, 236
Estrutura Química e Precursores, 237
Etapas da Via Biossintética, 239
Substâncias Inibitórias da Biossíntese, 240

Conjugação e Degradação, 241
Transporte, 241

Mecanismos e Modo de Ação, 242
Percepção do Sinal, 242
Proteínas DELLA e o Mecanismo de Repressão de Respostas às Giberelinas, 243
As Sementes de Cereais como Modelo de Estudo da Transdução do Sinal de Giberelinas, 243
Efeitos no Crescimento e Desenvolvimento Vegetal, 247
Quebra de Dormência em Sementes e Germinação, 247
Controle do Meristema Apical Caulinar e Iniciação de Folhas, 248
Crescimento Caulinar e Alongamento Celular, 249
Crescimento por Divisão Celular, 251
Mudança de Fase Juvenil para Madura, Indução da Floral e Determinação do Sexo, 251
Estabelecimento e Desenvolvimento de Frutos, 252
Superação da Dormência em Embriões Somáticos e Gemas, 253

Aplicações Comerciais, 253
Referências, 254

12 ÁCIDO ABSCÍSIKO, 255

Eliane Stacciarini-Seraphin e Luciano Freschi

Introdução, 255
Histórico e Descoberta do ABA, 255
Ocorrência do ABA nas Plantas, 256
Mutantes Deficientes e Insensíveis ao ABA, 256
Estrutura, Principais Formas e Atividade do ABA, 257
Biossíntese e Inativação do ABA, 257
Locais de Biossíntese, 257
Etapas da Biossíntese, 258
Síntese dos Carotenóides Não-oxigenados, 258
Síntese e Clivagem das Xantofilas, 258

Síntese do ABA no Citossol, 260
Conjugação, 260
Degradação, 261
Transporte do ABA, 261
Mecanismo de Ação do ABA, 261
Percepção, 261
Transdução de Sinais, 264
Expressão Gênica, 265
Principais Funções do ABA, 265
Proteção ao Estresse Hídrico, 266
Desenvolvimento da Semente, 266
Dormência de Gemas, 268
Senescência, 268
Proteção Contra Injúrias, 268
Aplicações Práticas do ABA, 268
Referências, 269
Bibliografia Recomendada, 269

13 ETILENO, 271

Sandra Colli e Eduardo Purgatto

Histórico da Descoberta do Etileno, 271
Ocorrência do Etileno, 272
Biossíntese e Inativação, 272
Transporte do Etileno, 275
Mecanismo de Ação do Etileno, 275
Receptores de Etileno, 276
Proteína CTR1, 277
Demais Componentes na Via de Sinalização, 278
Interação do Etileno com Outros Hormônios, 280
Auxinas, 280
Citocininas, 281
Giberelinas, 281
Ácido Abscísico, 282
Etileno, 282
Jasmonatos, 282
Fatores Bióticos e Abióticos, 283
Temperatura, 283
Luz, 283
Oxigênio, 283
CO₂, 283
Alagamento, 283
Seca, 284
Substâncias Químicas, 284
Ferimentos Mecânicos, 284
Infecção por Patógenos, 284
Principais Funções nos Vegetais, 284
Divisão e Expansão Celular, 284
Dormência, 285
Crescimento e Diferenciação da Parte Aérea, 285
Crescimento, 285
Senescência e Morte Celular Programada (MCP), 286
Abertura do Gancho Subapical, 288
Expansão e Epinastia de Folhas, 288
Lenticelas Hipertrofiadas, 289
Indução Floral e Expressão Sexual, 290

Tecidos Secretores, 290
Amadurecimento de Frutos, 290
Abscisão, 290
Crescimento e Diferenciação de Raízes, 291
Crescimento, 291
Formação de Pêlos Absorventes, 291
Raízes Adventícias, 292
Aerênquima, 293
Referências, 294
Bibliografia Recomendada, 294

14 OUTROS REGULADORES: BRASSINOSTERÓIDES, POLIAMINAS, ÁCIDOS JASMÔNICO E SALICÍLICO, 296

Sandra Colli

Introdução, 296
Brassinosteróides, 296
Biossíntese dos Brassinosteróides, 296
Funções dos Brassinosteróides, 296
Poliaminas, 297
Biossíntese das Poliaminas em Plantas, 297
Funções Celulares das Poliaminas, 298
Funções das Poliaminas no Desenvolvimento Vegetal, 299
Ácido Jasmônico, 299
Biossíntese do Ácido Jasmônico, 299
Funções do Ácido Jasmônico, 299
Ácido Salicílico, 300
Biossíntese do Ácido Salicílico, 300
Funções do Ácido Salicílico, 301
Bibliografia Recomendada, 302

15 FOTOMORFOGÊNESE EM PLANTAS, 303

Nidia Majerowicz e Lázaro Eustáquio Pereira Peres

Introdução, 303
Fitocromo e Controle do Desenvolvimento, 304
Descoberta do Fitocromo, 304
Fitocromo: uma Família Gênica, 306
Propriedades Físico-químicas dos Fitocromos, 308
A Molécula dos Fitocromos, 308
Propriedades Espectrofotométricas, 308
Localização e Expressão dos Fitocromos na Planta, 308
Respostas ao Fitocromo Também Dependem da Quantidade de Luz, 309
Mutações Fotomorfogênicas, 310
Mecanismos de Ação dos Fitocromos, 312
Modificação da Permeabilidade das Membranas, 312
Regulação da Expressão Gênica, 313
A Luz nos Ambientes Naturais, 313
Importância Ecofisiológica dos Fitocromos, 313
Controle da Germinação de Sementes Fotoblásticas, 314

Desestiolamento de Plântulas Recém-germinadas, 314
Modulação do Crescimento e Forma de Plantas Iluminadas, 314
Detecção da Aurora e do Crepúsculo e Sincronização do Relógio Biológico, 316
Percepção Fotoperiódica, 316
Fotomodulação do Desenvolvimento pela Luz Azul, 316
Referências, 317
Bibliografia Recomendada, 317

16 MOVIMENTOS EM PLANTAS, 318

Alfredo Gui Ferreira e Arthur Germano Fett-Neto

Introdução, 318
Tropismos, 318
Fototropismo, 318
Gravitropismo, 321
Raízes, 323
Percepção, 323
Transdução e Resposta, 323
Caules e Coleóptilos, 324
Percepção, 324
Transdução e Respostas, 324
Outros Tropismos, 325
Tigmotropismo, 325
Hidrotropismo, 325
Quimiotropismo, 325
Nastismos, 325
Epinastismo e Hiponastismo, 325
Termonastismo, 326
Hidronastismo, 326
Nictinastismo, 326
Tigmonastismo, 328
Referências, 330
Bibliografia Recomendada, 330

17 RITMOS CIRCADIANOS NAS PLANTAS, 331

Arthur Germano Fett-Neto

Terminologia e Características de Ritmos Circadianos, 331
Componentes e Base Molecular do Relógio Circadiano, 333
Interação entre Relógio Circadiano e Fotoperiodismo, 338
Referências, 339
Bibliografia Recomendada, 339

18 FLORAÇÃO, 340

Ana Paula Artimonte Vaz, Henrique Pessoa dos Santos e Lilian Beatriz Penteado Zaidan

Introdução, 340
Fases de Desenvolvimento, 340
Indução da Floração, 341
Fatores Ambientais, 341
Luz, 341

Temperatura, 345
 Umidade, 346
 Fogo, 347
 Fatores Endógenos, 347
 Nutrição, 347
 Açúcares, 348
 Hormônios Vegetais, 348
 Citocininas, 348
 Auxinas, 348
 Giberelinas, 349
 Ácido Abscísico, 349
 Etileno, 349
 Hipóteses sobre a Natureza do Sinal Floral, 349
 Evocação Floral, 351
 Desenvolvimento Floral, 352
 Aspectos Moleculares, 352
 Floração *In Vitro*, 355
 Perspectivas no Estudo da Floração, 356
 Bibliografia Recomendada, 357

19 FRUTIFICAÇÃO E AMADURECIMENTO, 358

Gilberto B. Kerbauy

Introdução, 358
 Origem dos Frutos, 358
 Surgimento do Ovário, 359
 Desenvolvimento do Fruto, 360
 Fases do Desenvolvimento do Fruto, 361
 Fase I: Polinização, Fertilização e Início do Desenvolvimento, 361
 Polinização, 361
 Partenocarpia, 363
 Fase II: Divisão Celular, Formação da Semente e do Embrião, 363
 Fase III: Expansão Celular, Crescimento do Fruto e Maturação do Embrião, 364
 Controle Metabólico do Crescimento do Fruto, 368
 Maturação, 368
 Regulação da Síntese de Etileno e a Transição para a Maturação, 372
 Mudança de Cor, 374
 Degradação da Clorofila, 374
 Antocianinas, 375
 Carotenóides, 376
 Amolecimento dos Frutos, 376
 Sabor–Aroma, 378
 Substâncias de Reserva, 379
 Deiscência de Frutos Secos, 381
 Armazenagem de Frutos, 382
 Referências, 383

20 GERMINAÇÃO, 384

Victor José Mendes Cardoso

Introdução, 384
 A Semente, 384
 Desenvolvimento da Semente, 384
 Etapas do Desenvolvimento, 385
 Desidratação e Tolerância à Dessecação, 386
 Controle do Desenvolvimento, 387
 O Processo de Germinação, 389
 Terminologia e Critérios, 389
 Tipos de Germinação, 389
 Etapas da Germinação, 389
 Embebição, 389
 Extensão Radicular, 390
 Metabolismo da Semente Germinante, 391
 Controle da Germinação, 392
 Fatores que Influenciam a Germinação, 395
 Luz, 395
 Temperatura, 397
 Potencial Hídrico, 399
 Fatores Químicos, 400
 Fatores Bióticos, 402
 Viabilidade, 402
 Dormência, 404
 O Conceito de Dormência, 404
 Classificação da Dormência, 405
 Dormência Fisiológica (DF), 405
 Dormência Morfológica, 406
 Dormência Morfofisiológica, 406
 Dormência Física, 406
 Dormência Química, 406
 Quebra da Dormência, 406
 Referências, 407
 Bibliografia Recomendada, 408

21 TUBERIZAÇÃO, 409

Rita de Cássia Leone Figueiredo-Ribeiro, Edison Paulo Chu e Vilma Palazetti de Almeida

Introdução, 409
 Controle da Iniciação da Tuberização, 410
 Fatores Ambientais, 410
 Fatores Endógenos, 412
 Metabolismo dos Carboidratos em Órgãos Tuberosos, 414
 Importância Econômica dos Órgãos Tuberosos, 417
 Conclusões e Perspectivas, 417
 Referências, 419
 Bibliografia Recomendada, 419

Índice Alfabético, 420

CAPÍTULO 1

Relações Hídricas

José Antonio Pimenta

INTRODUÇÃO

A água é uma das mais importantes substâncias do planeta e o solvente ideal para a ocorrência dos processos bioquímicos, e foi num sistema aquoso que ocorreu a evolução da vida.

Entre os primeiros organismos de que se tem registro fóssil, estão as plantas vasculares, aproximadamente 450 milhões de anos atrás, o que corresponde a apenas 10% da idade da Terra. Provavelmente, essa demora na conquista do ambiente terrestre tenha sido causada pela dificuldade na obtenção de água em um ambiente inerentemente seco. O desenvolvimento de raízes e um sistema vascular avançado foram necessários para absorver e transportar água, enquanto epiderme e estômatos foram necessários para conservá-la.

Em tecidos metabolicamente ativos de plantas em crescimento, a água constitui 80 a 95% da massa, enquanto, em tecidos lenhosos, alcança de 35 a 75%. Embora certas plantas tolerantes à dessecação possam experimentar conteúdo de água de somente 20%, e sementes secas possam conter 5 a 15%, ambas, nessas condições, estão metabolicamente inativas e reassumem atividade metabólica apenas após a absorção de uma considerável quantidade de água.

A água é absorvida do solo, movimenta-se através da planta e boa parte é perdida para a atmosfera na forma de vapor, processo esse conhecido como transpiração. Sob o calor de um dia ensolarado, a folha pode trocar 100% de seu conteúdo de água em apenas uma hora. Para cada 2 g de matéria orgânica produzida pela planta, aproximadamente 1 litro de água é absorvido pelas raízes, transportado através do corpo da planta e perdido para a atmosfera. Em plantas mesófilas (plantas adaptadas a ambientes com relativa disponibilidade de água, no solo e na atmosfera) num solo úmido e atmosfera com baixa umidade relativa (UR), cerca de 82% da água absorvida é transpirada e 18% é armazenada. Já

em plantas xerófilas (plantas adaptadas a ambientes secos) suculentas, apenas 50% da água absorvida é transpirada. A água nas células é armazenada nos vacúolos e protoplasma (90 a 95%) e paredes (5 a 10%).

A importância de se estudarem as relações hídricas em plantas se deve à diversidade de funções fisiológicas e ecológicas que a água exerce. Entre os recursos de que a planta necessita para crescer e funcionar, a água é o mais abundante e, também, o mais limitante. Logo, tanto a distribuição da vegetação sobre a superfície terrestre quanto a produtividade agrícola são controladas principalmente pela disponibilidade de água.

A absorção de água pelas células gera, no interior destas, uma força conhecida como turgor. Na ausência de qualquer tecido de sustentação, as plantas, para se manterem eretas, necessitam manter a turgidez. A pressão de turgor é essencial também para muitos processos fisiológicos, como o alongamento celular, as trocas gasosas nas folhas e o transporte no floema. A perda do turgor devido ao estresse hídrico provoca o fechamento estomático, a redução da fotossíntese e da respiração e a interferência em muitos processos metabólicos básicos. Sob desidratação intensa, ocorre desorganização do protoplasma e a morte da maioria dos organismos.

A água é imprescindível como reagente ou substrato de importantes processos como a fotossíntese (ver Cap. 5, Fotossíntese) e a hidrólise do amido em açúcar (ver Cap. 7, Respiração) em sementes germinando. Historicamente, a água foi essencial para o surgimento e a evolução dos organismos aeróbios, que são os mais evoluídos sobre a Terra. A partir da evolução da fotossíntese oxigênica, onde se dá a quebra da molécula de água (doadora de elétrons) em H^+ e O_2 , ocorrida há aproximadamente 2 bilhões e 500 milhões de anos, foi possível aumentar a concentração de oxigênio na atmosfera, de traços para os 21% com que convivemos hoje. O que possibilitou grande diversificação de formas de vida no planeta.

Além da essencialidade da água como doadora de elétrons para o fluxo acíclico na fotossíntese, sabe-se, hoje, que ela é importante também na eliminação ou desintoxicação de formas de oxigênio reativo, como O_2^- e H_2O_2 , que podem acumular-se em resposta ao excesso de fótons, ou seja, a água pode dificultar a fotoinibição. Outras importantes funções da água estão relacionadas ao movimento de nutrientes minerais tanto no solo quanto nas plantas, ao movimento de produtos orgânicos da fotossíntese, à locomoção de gametas no tubo polínico para a fecundação e como meio de transporte na disseminação de esporos, frutos e sementes para muitas espécies.

Nas últimas décadas, os estudos de relações hídricas têm progredido rapidamente devido à utilização dos conceitos da termodinâmica, que permitiram um melhor entendimento do movimento de água nas plantas e em outros sistemas biológicos. Como consequência, esses estudos geraram conceitos e análises na relação água-planta que estão intimamente relacionados com as leis da termodinâmica, sendo necessário alguns conhecimentos básicos dessa matéria para entender os princípios do movimento da água.

Toda a importância da água no sistema solo-planta-atmosfera está diretamente relacionada às características químicas da molécula, que lhe conferem propriedades físico-químicas singulares. Neste capítulo serão abordados: estrutura química e propriedades físico-químicas da água, princípios do seu movimento, potencial químico e conceito de potencial de água. Esses conhecimentos são básicos para o entendimento da abordagem seguinte sobre o movimento da água nas plantas e entre as plantas e o ambiente.

ESTRUTURA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

A água apresenta várias propriedades físicas e químicas especiais quando comparada com outras moléculas de tamanhos similares. Essas propriedades capacitam a água a agir como “solvente universal” e ser prontamente transportada através da planta. Nenhuma outra substância conhecida tem mais propriedades incomuns do que a água.

Estrutura da molécula de água

As propriedades físico-químicas da água estão intimamente relacionadas à sua estrutura eletrônica, ou seja, derivam primariamente da estrutura polar da molécula de água. Para ilustrar, na Tabela 1.1 são apresentados os elevados pontos de fusão e ebulição da água quando comparada com substâncias de estruturas similares, o que indica a sua alta força intermolecular. Em outras palavras, o aumento da temperatura não rompe facilmente as ligações água-água.

As fortes ligações entre as moléculas de água são devidas às formações de pontes de hidrogênio como consequência da estrutura da molécula (Fig. 1.1A). Na água, o oxigênio se une covalentemente a dois átomos de hidrogênio com distâncias de 0,099 nm e um ângulo de 105° . O átomo de oxigênio é mais eletro-negativo que o hidrogênio e tende a atrair os elétrons, ficando estes mais afastados dos átomos de hidrogênio. Como resultado, o átomo de oxigênio na molécula de água apresenta carga parcial negativa (δ^-), enquanto cada hidrogênio apresenta carga parcial positiva (δ^+). As cargas parciais são correspondentes, de modo que a molécula de água não apresenta nenhuma carga líquida (eletricamente neutra). Entretanto, essa distribuição assimétrica de elétrons faz da água uma molécula polar, um dipolo. A separação de cargas positivas e negativas gera uma atração elétrica mútua entre moléculas polares, que possibilita a formação das chamadas pontes de hidrogênio (Fig. 1.1B).

Os hidrogênios positivamente carregados da molécula de água são eletrostaticamente atraídos pelo oxigênio negativamente carregado de duas outras moléculas vizinhas. Isso leva à formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas, com uma energia de cerca de 20 kJ mol^{-1} . Cada molécula de água pode estabelecer pontes de hidrogênio com outras quatro. As pontes de hidrogênio são bem mais fracas que as ligações covalentes ou iônicas, que normalmente têm uma energia de 400 kJ mol^{-1} , mas são mais fortes que as atrações momentâneas conhecidas como força de van der Waals, que apresentam cerca de 4 kJ mol^{-1} .

As ligações covalentes são fortes, mas podem ser rompidas durante as reações químicas. Se as ligações covalentes fossem o único tipo existente, não existiriam sólidos e líquidos, porque elas não possibilitam que moléculas interajam umas com as outras. No entanto, existem também as forças intermoleculares de van der

TABELA 1.1
Comparação entre propriedades físicas da água e as de outros compostos com estruturas similares, que têm 10 prótons e 10 elétrons

Substância	Fórmula química	Quantidade de H	Ponto de fusão ($^\circ\text{C}$)	Calor de fusão (J g^{-1})	Ponto de ebulição ($^\circ\text{C}$)	Calor de vaporização (J g^{-1})
Metano	CH_4	4	-184	58	-161	556
Amônia	NH_3	3	-78	452	-33	1.234
Água	H_2O	2	0	335	100	2.452
Fluoreto de H	HF	1	-92	—	19	—
Neônio	Ne	0	-249	—	-246	—

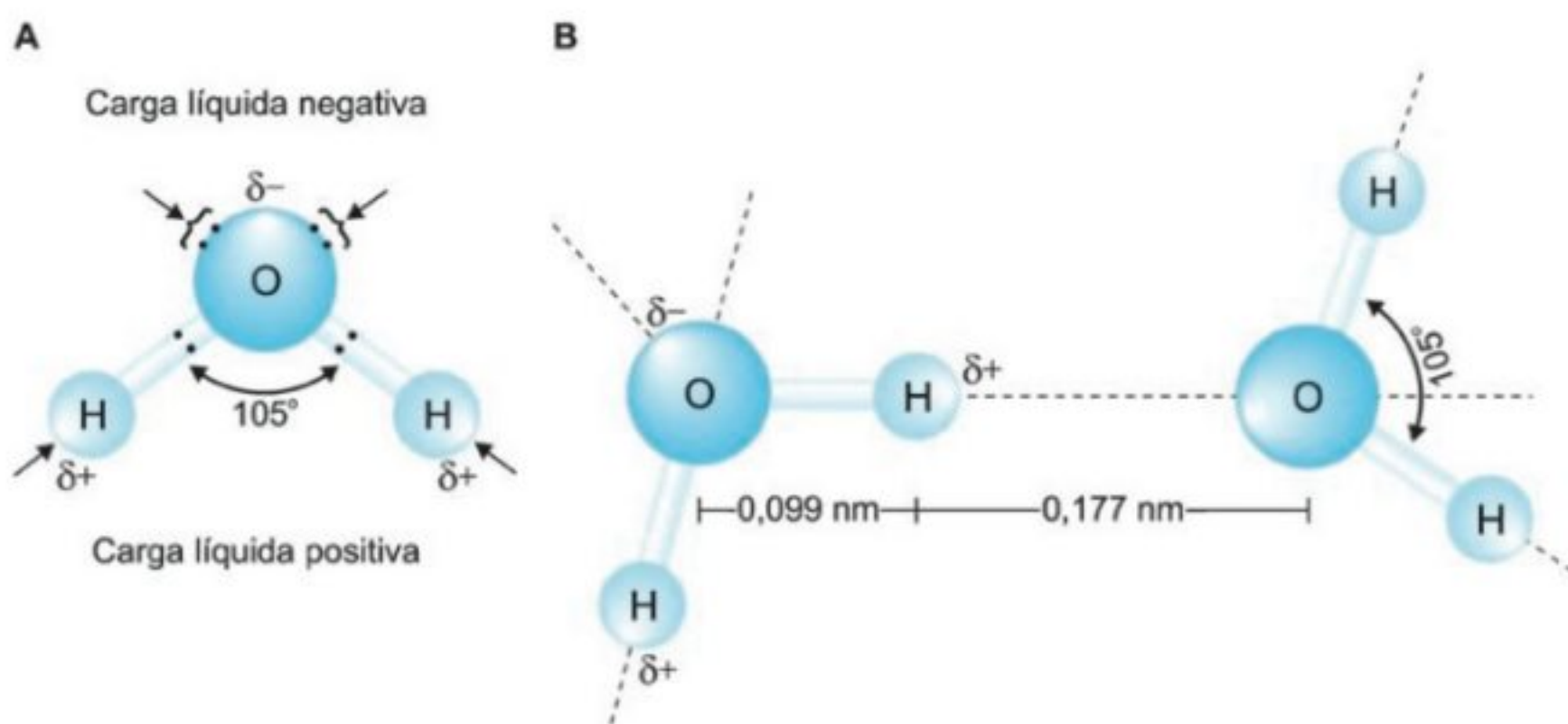


FIGURA 1.1

A. Representação esquemática da molécula de água. As duas ligações intramoleculares dos hidrogênios com o oxigênio formam um ângulo de 105° . As cargas parciais opostas (δ^- e δ^+) resultam na formação de pontes de hidrogênio intermoleculares com outras moléculas de água; as setas indicam a posição dessas pontes. **B.** Esquema mostrando as distâncias das ligações de átomos de hidrogênio e oxigênio intra e intermoleculares. As ligações covalentes (intramoleculares) são representadas em azul e as pontes de hidrogênio (intermoleculares), por linhas pontilhadas.

Waals ou de London e as pontes de hidrogênio, que possibilitam interação entre moléculas adjacentes e afetam o comportamento de gases e líquidos. Por exemplo, o que caracteriza a grande diferença nas propriedades físicas entre o metano e a água (Tabela 1.1) é que o primeiro não apresenta efeito de dipolo permanente, porque suas moléculas não possuem distribuição assimétrica de elétrons, e, conseqüentemente, nenhuma carga parcial que possibilite a formação de pontes de hidrogênio. No entanto, mesmo as moléculas neutras podem apresentar, momentaneamente, características dipolares, causando as interações chamadas força de van der Waals.

As forças produzidas pela distribuição assimétrica de cargas da molécula de água são responsáveis pela estrutura simétrica cristalina do gelo. Quando a água no estado sólido derrete a 0°C , com a absorção de energia na faixa 6 kJ mol^{-1} , aproximadamente 15% das pontes de hidrogênio são quebradas. No estado líquido a 25°C , aproximadamente 80% das pontes de hidrogênio são mantidas intactas (estrutura semicristalina). Uma considerável quantidade de energia, cerca de 32 kJ mol^{-1} (igual a 73% do calor latente de vaporização), é requerida para romper essas pontes durante a evaporação (Fig. 1.2). Assim, a fórmula química da água deveria ser expressa como $(\text{H}_2\text{O})_n$, onde n diminui com o aumento da temperatura.

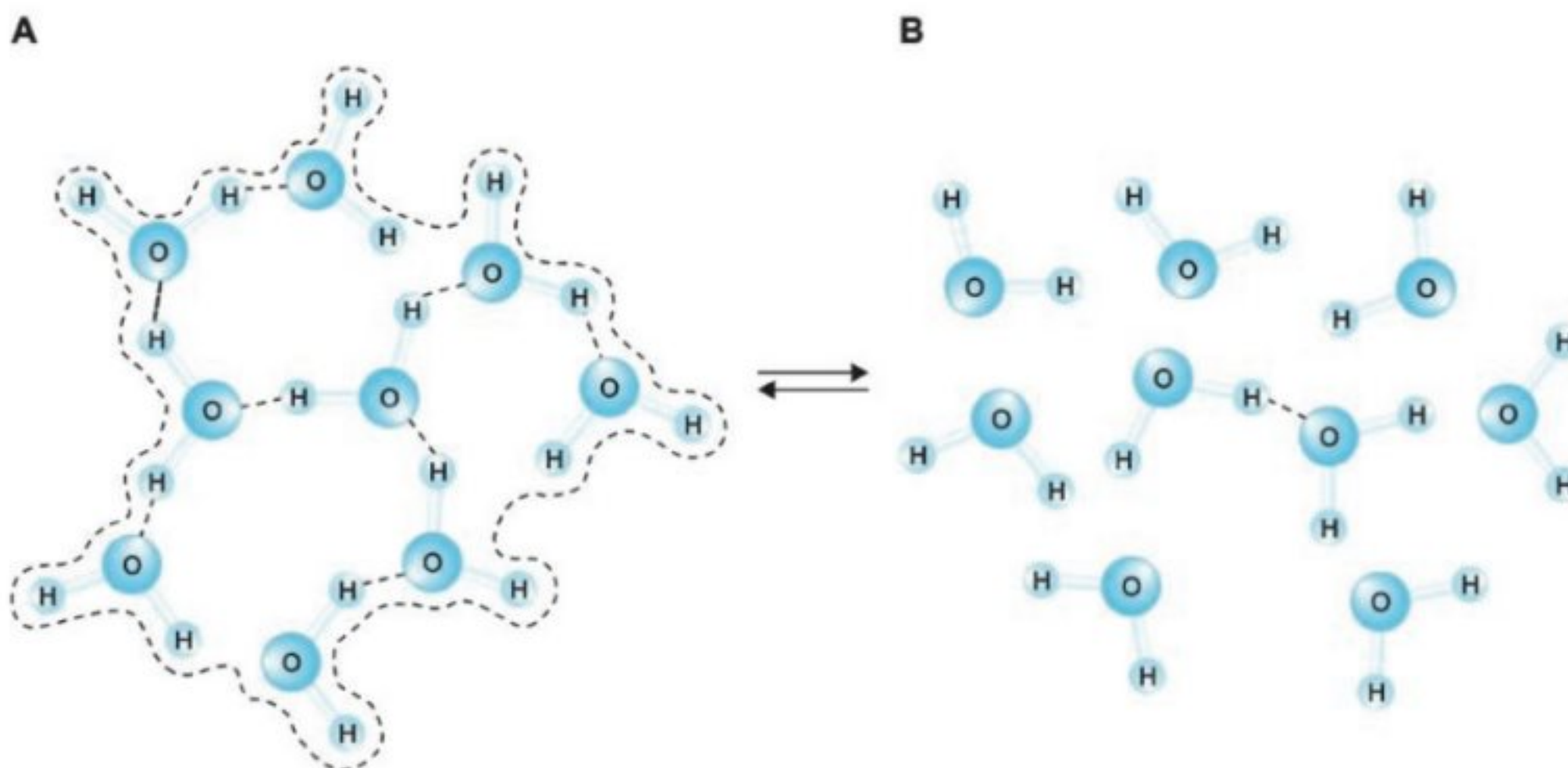


FIGURA 1.2

A. Diagrama esquemático da agregação das moléculas numa forma semicristalina. **B.** Desagregação das moléculas de água devido à contínua agitação térmica, mostrando uma configuração ao acaso (fase gasosa).

Além das interações entre as moléculas de água, as ligações de hidrogênio também são importantes para atrações entre a água e outras moléculas ou superfícies que tenham átomos eletronegativos (O ou N). Por exemplo, as ligações de hidrogênio são a base das capas de hidratação que se formam na superfície de moléculas biologicamente importantes como proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos. Tem sido estimado que a capa de hidratação pode corresponder a 30% da massa hidratada de uma proteína, sendo muito importante para a estabilidade da molécula.

Propriedades físicas e químicas da água

A polaridade da molécula de água e a extensiva quantidade de pontes de hidrogênio intermoleculares apresentada no estado líquido contribuem para as propriedades raras ou singulares e biologicamente importantes que a água apresenta.

PROPRIEDADE DE SOLVENTE

Por ser um solvente de largo espectro (“solvente universal”), a água dissolve a maior quantidade e variedade de substâncias do que qualquer outro solvente conhecido. Essa excelente *propriedade de solvente* da água se deve à sua natureza polar e ao seu pequeno tamanho, possibilitando que ela seja um bom solvente para substâncias iônicas e para moléculas que contêm resíduos polares como $-OH$ ou $-NH_2$ comumente encontradas em açúcares e proteínas. Como solvente, a água é quimicamente bastante inerte, atuando como um meio ideal para a difusão e as interações químicas de outras substâncias.

A água tem a capacidade de neutralizar cargas de íons ou macromoléculas, circundando-as de forma orientada com uma ou mais camadas, formando a chamada *capa de moléculas de água* ou *camada de solvatação*. Essa capa de hidratação reduz as probabilidades de recombinações entre os íons e as interações entre as macromoléculas, funcionando como um isolante elétrico (Fig.

1.3). A efetividade da água como isolante elétrico diminui com a concentração do soluto.

A água tem a tendência também de se ligar fortemente à superfície de colóides do solo, como argila, silte e areia, bem como à celulose e a muitas outras substâncias. Essa característica de adsorção é de grande importância na relação solo-planta.

A polaridade da molécula de água pode ser medida por uma grandeza conhecida como *constante dielétrica*. A água apresenta uma das maiores constantes dielétricas que se tem conhecimento entre os solventes (Tabela 1.2). Desse modo, a água se apresenta como um excelente solvente para íons e moléculas carregadas, diferentemente do benzeno e do hexano.

PROPRIEDADES TÉRMICAS

Em função da considerável quantidade de energia requerida para romper a forte atração intermolecular causada pelas pontes de hidrogênio, a água apresenta propriedades térmicas atípicas e biologicamente muito importantes, tais como elevados valores de *ponto de fusão* e *de ebulição*, *de calor latente de fusão* e *de vaporização* e *de calor específico*. Essas propriedades são extremamente importantes, possibilitando que a água mantenha-se no estado líquido a temperaturas compatíveis com a vida.

De modo geral, quanto menor uma molécula, menores serão seus pontos de fusão e ebulição. Desse ponto de vista, em temperaturas terrestres, a água estaria na forma de vapor. Entretanto, isso não ocorre devido à sua grande capacidade de formar pontes de hidrogênio por ser dipolar, apresentando pontos de fusão e ebulição bem superiores aos de outras moléculas similares (Tabela 1.1).

A energia requerida para separar moléculas de um líquido e mover para uma fase de vapor adjacente, sem uma mudança de temperatura, é chamada de calor latente de vaporização. Já a energia requerida para converter uma substância do estado sólido para o líquido é conhecida como calor latente de fusão. As pontes de hidrogênio aumentam a quantidade de energia necessária para a água evaporar, necessitando de 2.452 J de energia

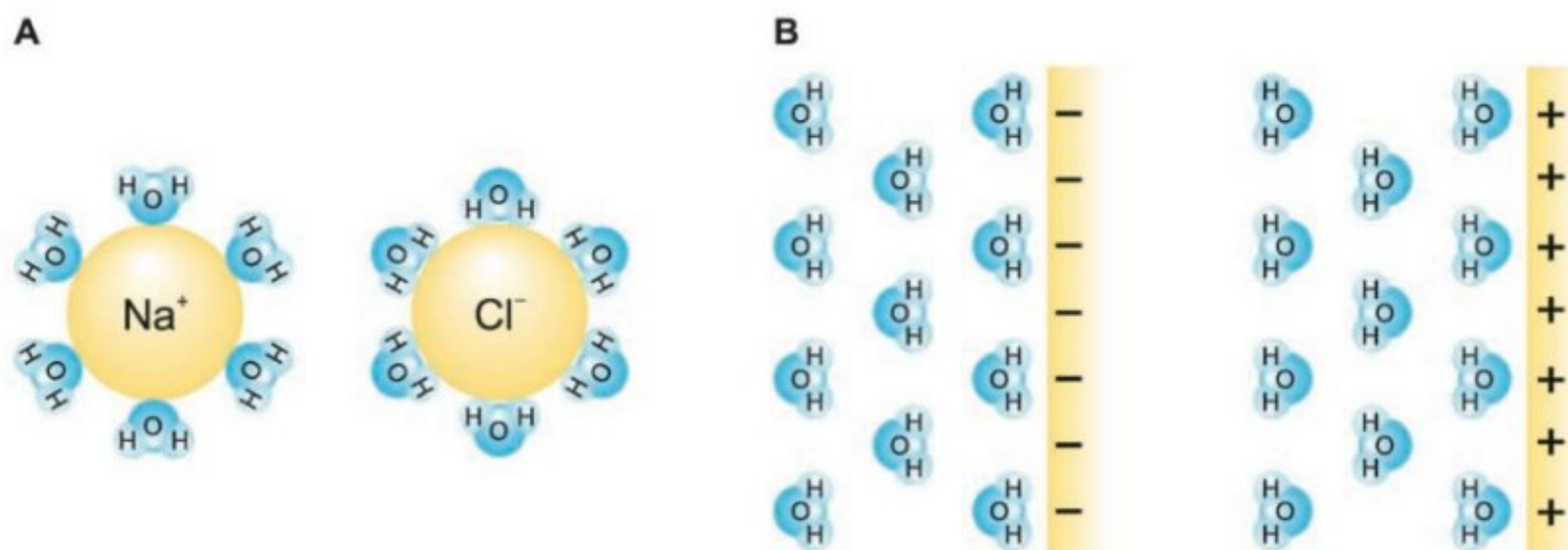


FIGURA 1.3

A. Orientação das moléculas de água na superfície de um íon. **B.** Orientação das moléculas de água em superfícies de macromoléculas carregadas.

TABELA 1.2
Constantes dielétricas de alguns solventes a 25°C

Substância	Constante dielétrica
Água	78,4
Metanol	33,6
Etanol	24,3
Benzeno	2,3
Hexano	1,9

para converter 1 g de água líquida em vapor (44 kJ mol^{-1}). É o maior valor de calor latente de vaporização que se conhece entre os líquidos (Tabela 1.1). Assim como as pontes de hidrogênio aumentam a energia requerida para a evaporação, elas também aumentam a energia necessária para o gelo derreter, fazendo com que a água tenha um calor latente de fusão menor somente que o da amônia (Tabela 1.1). A água necessita de 335 J de energia para converter 1 g de gelo a 1 g de líquido a 0°C (6 kJ mol^{-1}).

A importância dessas propriedades para a vida das plantas é que, uma vez bem hidratadas, as plantas, para sofrerem com a queda da temperatura, precisam perder grande quantidade de calor. E, ao contrário, em função da necessidade de absorver grande quantidade de energia calórica de regiões vizinhas, o alto calor de vaporização da água leva a um resfriamento associado com a evaporação.

O calor específico refere-se à quantidade de energia calórica requerida por uma substância para que ocorra um dado aumento de temperatura. O calor específico da água é de **1 caloria** por grama por grau centígrado correspondendo a $4,184 \text{ J g}^{-1} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, maior do que qualquer outra substância com exceção da amônia líquida, que é cerca de 13% maior. Uma caloria é definida pela quantidade de calor necessária para aquecer em 1°C 1 ml de água, nas condições normais de temperatura e pressão. Quando a temperatura da água é aumentada, as moléculas vibram rapidamente, e grande quantidade de energia é requerida pelo sistema para quebrar as pontes de hidrogênio. Esse alto calor específico possibilita que a água funcione como um tampão de temperatura para os organismos. Sendo assim, as células das plantas podem trocar grande quantidade de calor com o ambiente sem que ocorram variações consideráveis na temperatura interna da célula.

O alto calor específico da água tende a estabilizar a temperatura e é refletido, sob condições naturais, na temperatura relativamente uniforme encontrada em ilhas de terras próximas a grandes corpos de água. Isso é importante tanto para a agricultura quanto para a vegetação natural. A água é também extremamente boa condutora de calor, comparada com outros líquidos e sólidos não metálicos, embora seja pobre comparada com os metais. Essa alta *condutividade térmica* da água líquida também se deve a sua estrutura altamente ordenada. A combinação do alto calor específico com a alta condutividade térmica capacita a água a absorver e redistribuir muita energia calórica sem haver um correspondente aumento da temperatura.

Uma outra propriedade importante para as plantas é o fato de a água líquida ser quase *incolor*. A boa transmissão de luz visível torna possível às plantas aquáticas fotossintetizarem a profundidades consideráveis.

PROPRIEDADES DE COESÃO E ADESÃO

As propriedades de coesão e adesão da água estão também relacionadas à forte atração entre suas moléculas e entre estas e superfícies carregadas, respectivamente.

A atração intermolecular que ocorre com as moléculas de água resultando na formação das pontes de hidrogênio é conhecida como *coesão*. Como consequência dessa alta força coesiva interna entre as moléculas, a água apresenta também considerável *tensão superficial*. Isso fica evidente na comparação entre a água e o ar, porque as moléculas de água são mais fortemente atraídas pelas moléculas vizinhas do que pela fase gasosa do outro lado da superfície. O termo tensão superficial refere-se à condição que existe na interface. Entretanto, a melhor maneira de definir tensão superficial é considerá-la como a quantidade de energia requerida para expandir a superfície por unidade de área. A água tem uma tensão superficial maior do que qualquer outro líquido, com exceção do mercúrio.

Como resultado dessa alta tensão superficial, a água apresenta dificuldades de se espalhar e penetrar nos espaços de uma superfície. Isso fica evidente na formação de gotículas nas folhas e no fato de a água não entrar nos espaços intercelulares das folhas através dos estômatos abertos. A alta tensão superficial é a razão também de a água suportar o peso de pequenos insetos.

Certos solutos, como sacarose e KCl, não se concentram preferencialmente na interface ar-líquido e, conseqüentemente, têm pouco efeito sobre a tensão superficial de uma solução aquosa. Por outro lado, ácidos graxos e certos lipídios podem concentrar-se na superfície (interface) e reduzir muito a tensão superficial. São moléculas conhecidas como surfatantes, as quais possuem regiões polares (hidrofílicas) e apolares (hidrofóbicas) e são freqüentemente adicionadas aos fungicidas e herbicidas nas pulverizações, visando, com a quebra da tensão superficial, a uma distribuição mais uniforme destes nas superfícies foliares.

A coesão das moléculas de água é também responsável pela alta *força tênsil* (*força de tensão*), definida como a capacidade de resistir a uma força de arraste, ou, ainda, é a tensão máxima que uma coluna ininterrupta de qualquer material pode suportar sem quebrar. Não é usual pensar em líquidos dotados de força tênsil, por esta ser uma propriedade típica dos metais; no entanto, uma coluna de água é também capaz de suportar tensões bastante altas, na ordem de 30 megapascal (MPa) ($1 \text{ MPa} = 10 \text{ bares} = 9,87 \text{ atm}$). Isso facilita o arraste de uma coluna de água em um tubo capilar sem que esta se rompa. No xilema, o rompimento da coluna contínua de água tem efeito devastador sobre o transporte da seiva bruta, principalmente em árvores.

As mesmas forças que atraem as moléculas de água (coesão) são aquelas que atraem as moléculas de água às superfícies sólidas, uma propriedade conhecida como *adesão*. Essas interações atrativas são importantes para a subida da água em tubos de pequenos diâmetros.

As propriedades de coesão, tensão superficial, força tênsil e adesão, juntas, ajudam a explicar o fenômeno conhecido como capilaridade, que é o movimento ascendente da água em tubos de pequenos diâmetros tanto de vidro (a água sobe, em um tubo de vidro de 0,03 mm de diâmetro, até uma altura de aproximadamente 120 cm) quanto no próprio xilema. Essas propriedades são importantes para explicar também a teoria da coesão e tensão ou teoria de Dixon a respeito do movimento ascendente de água no xilema, que será abordado posteriormente.

PROCESSOS DO MOVIMENTO DA ÁGUA

A água e os solutos estão em constante movimento dentro das células, de célula para célula, de tecido para tecido e nas plantas do solo para as raízes, dessas para as folhas e, especificamente, no caso da água das folhas para a atmosfera. Logo, quando se estudam as relações hídricas nas plantas, é importante que se conheça o que governa o movimento da água.

Tanto nos sistemas vivos quanto no mundo abiótico, os movimentos das moléculas são governados por dois processos: o *fluxo em massa* e a *difusão*. No caso da água, deve também ser considerado um tipo especial de movimento conhecido como *osmose*. Esses movimentos obedecem a leis físicas. O gradiente de potencial de pressão (ou pressão hidrostática) geralmente constitui a força que dirige o movimento de fluxo em massa; e, desde que nenhuma outra força esteja agindo sobre as moléculas, outro tipo de gradiente, o de concentração, está relacionado ao movimento por difusão.

Fluxo em massa

O movimento de grupos de moléculas por fluxo em massa ocorre quando forças externas são aplicadas, tais como pressão produzida por alguma compressão mecânica ou a própria gravidade; assim, todas as moléculas tendem a se mover na mesma direção em massa, enquanto a difusão resulta do movimento ao acaso de moléculas individuais. Pode-se então definir fluxo em massa como o movimento conjunto de partículas de um fluido em resposta a

um gradiente de pressão; é a forma mais simples de movimento fluido. Exemplos comuns de fluxo em massa são o movimento da água em um rio e a chuva; ambos são respostas à pressão hidrostática estabelecida pela gravidade.

Água e solutos movem-se através do xilema por fluxo em massa. Esse movimento é causado pela tensão ou pressão negativa desenvolvida nas superfícies transpirantes, a qual é transmitida à seiva do xilema da parte aérea para as raízes, conforme será visto adiante. No interior das plantas pode ocorrer também o fluxo em massa através das paredes das células, e a própria ciclose (movimento do citoplasma nas células) pode ser considerada um fluxo em massa. Pode ainda ocorrer fluxo em massa de água e outras substâncias no solo, e deste para as plantas.

Difusão

Conforme mencionado anteriormente, ao contrário do fluxo em massa, a difusão envolve movimento espontâneo, ao acaso, de partículas individuais. Define-se o fenômeno de difusão como o movimento, ao acaso, de partículas (moléculas e íons), causado pela sua própria energia cinética, de uma região para outra adjacente, onde a mesma substância está em menor concentração ou menor potencial químico. Sendo assim, a difusão é um processo pelo qual as partículas se misturam como resultado de sua agitação ao acaso. Por exemplo, as partículas que constituem um sistema estão em contínua movimentação (movimento termocástico) em todas as direções, colidindo umas com as outras e trocando energia cinética. Se houver inicialmente uma distribuição desuniforme de moléculas ou íons de determinada substância, o movimento contínuo destes tende a distribuí-los uniformemente através de todo espaço disponível. Ou seja, como existe maior número de partículas na região de maior concentração (maior potencial químico), haverá maior probabilidade de as partículas se moverem em direção à região de menor concentração, isto é, de menor potencial químico da substância (Fig. 1.4).

Quando o açúcar (solute) é colocado em um recipiente com água (solvente), as moléculas do soluto irão difundir-se em direção ao solvente, enquanto as moléculas deste difundir-se-ão na direção oposta. Isso ocorre até a solução ficar uniformemente

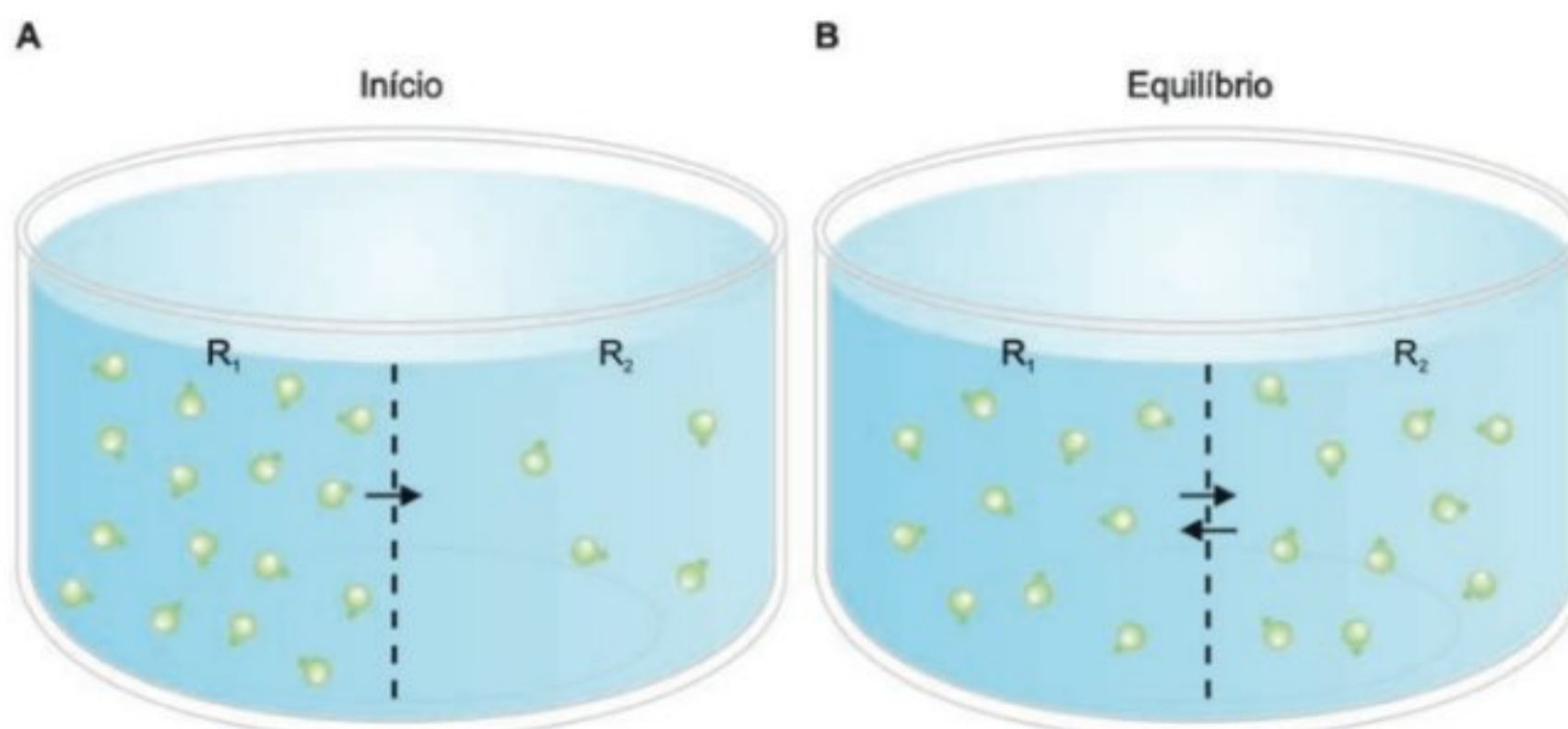


FIGURA 1.4

Movimento termocástico de partículas que leva à difusão, podendo ocorrer com líquidos, sólidos ou gases. **A.** Compartimentos com diferentes concentrações. **B.** Compartimentos após o equilíbrio dinâmico. Entropia de $R2 > R1$ no início, tendência de $R2$ se desorganizar até $R1 = R2$.

misturada, sem necessidade de outras forças agindo sobre as moléculas. Quando a distribuição uniforme das moléculas ocorre, um equilíbrio dinâmico é estabelecido e o movimento líquido de moléculas cessa (embora exista um contínuo movimento dentro de uma estrutura em equilíbrio).

Um primeiro tratamento matemático para expressar o processo de difusão quantitativamente foi feito por A. Fick em 1855, conhecido como 1ª lei de Fick:

$$J_j = -D_j \frac{dc_j}{dx} \quad (1.1)$$

onde J_j é o fluxo da substância j (moles $m^{-2} s^{-1}$), que se refere à quantidade da substância j (dm) atravessando uma certa área por unidade de tempo (dt); logo $J_j = dm/dt$. D_j é o coeficiente de difusão da substância j ($cm^2 s^{-1}$), que varia com o tipo de substância e com o meio (moléculas grandes têm um menor coeficiente de difusão, e a difusão no ar é mais rápida do que no líquido). O gradiente de concentração (dc_j/dx) é usualmente aproximado como $\Delta c_j/\Delta x$, que é a diferença na concentração da substância j , força que está dirigindo a difusão entre dois pontos separados pela distância Δx . O sinal negativo indica que o movimento ocorre em direção à região de menor concentração. Na equação se observa que, para uma dada substância, a taxa de difusão por unidade de área é proporcional ao gradiente de concentração e inversamente proporcional a distância na qual ela ocorre.

A difusão de solutos a longas distâncias é muito lenta. Calculou-se um período de 8 anos para uma pequena molécula com coeficiente de difusão de $10^{-5} cm^2 s^{-1}$ difundir 1 m na água, mas somente 0,6 segundo para difundir $5 \mu m$, uma distância típica de células da folha (Nobel, 1991). Isso sugere que o movimento a longas distâncias nas plantas, como no xilema, não ocorre por difusão. As substâncias que se movem no fluxo transpiratório da planta (longa distância) o fazem principalmente por fluxo em massa.

Assim como o fluxo em massa, a difusão faz parte da nossa rotina, como o açúcar colocado no copo de água, o odor do perfume de um frasco aberto no canto da sala, que se torna uniformemente distribuído no ambiente, o corante colocado num tanque com água etc. Além disso, a difusão tem grande significado na relação água-planta. A transpiração é um processo difusional, sendo importante também no movimento de nutrientes e água do solo para chegar até as raízes e da água e gases no interior da planta. Em particular, a difusão é que possibilita o suprimento de dióxido de carbono (CO_2) para a fotossíntese, o que pode ocorrer para distâncias maiores porque o coeficiente de difusão no ar é muito maior do que nas soluções aquosas.

Osmose

Imagine-se um recipiente separado em duas partes por uma membrana com permeabilidade seletiva (semipermeável), tendo de um lado água pura e, do outro, uma solução de açúcar. Sob tais condições ocorrerá um maior movimento de água do local onde ela se encontra pura para o lado contendo a sacarose. Esse

maior movimento da água através da membrana semipermeável é chamado de *osmose*. As membranas celulares de todos os organismos são semipermeáveis, ou seja, elas permitem que água e outras pequenas partículas sem carga atravessem mais prontamente do que solutos de partículas grandes e moléculas com carga.

Durante muito tempo, pensou-se a osmose, que é a forma de movimento da água para dentro e fora das células, como sendo uma *difusão* através da membrana a favor de um gradiente de potencial químico da água (no próximo item será abordado o conceito de potencial químico). Entretanto, há algum tempo pesquisadores têm observado que a osmose envolve também *fluxo em massa* através de canais da membrana. Essa constatação baseou-se em vários experimentos, indicando que o movimento osmótico da água é mais rápido do que a difusão de água marcada radioativamente com deutério e trítio.

Somente nos anos 1990 é que se compreendeu melhor a questão dos canais de água nas membranas. Eles foram identificados, denominados *aquaporinas* e são formados por proteínas com massa molecular de 26 a 29 quilodaltons pertencentes à principal família de proteínas integrantes da membrana formadora de canais. Sabe-se hoje que as aquaporinas são proteínas que aumentam a permeabilidade das membranas biológicas à água e são amplamente distribuídas nos diferentes organismos.

Com a identificação dos canais seletivos, ficou claro que a osmose que ocorre na absorção de água pelas células envolve a combinação de difusão de moléculas de água (uma a uma) através da membrana plasmática e o fluxo em massa através de canais de dimensões moleculares, que ficam cheios de água (Fig. 1.5). Para

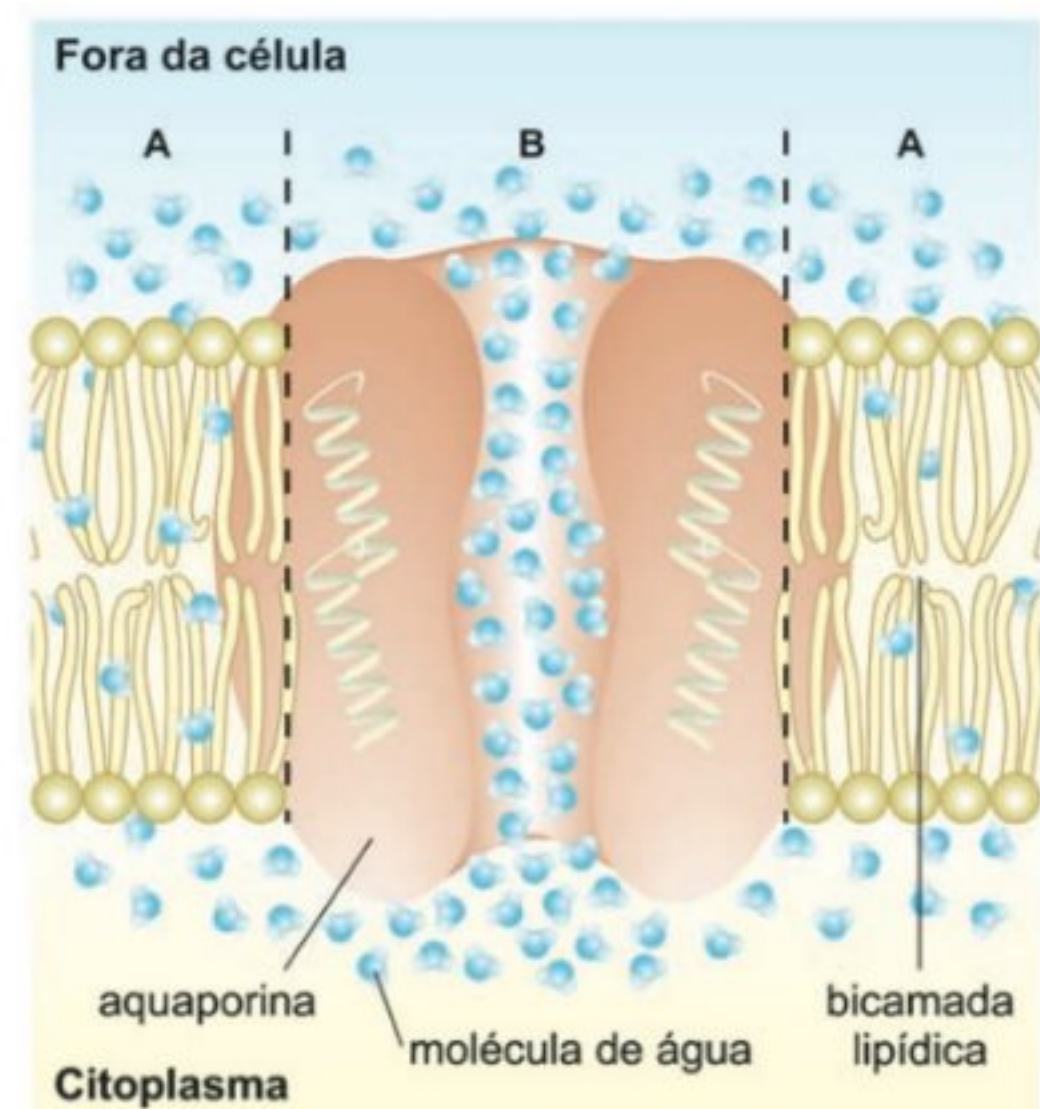


FIGURA 1.5

Movimento da água através da membrana plasmática das plantas. **A.** Individualmente, por difusão através do plasmalema. **B.** Por fluxo em massa, através de aquaporinas.

os dois tipos de movimento, a força que dirige os processos é o gradiente de potencial químico da água. A descoberta das aquaporinas resolve o questionamento do descompasso entre a rapidez da osmose e a velocidade de difusão individual de moléculas de água através da membrana. A capacidade de transportar água pode ser regulada pelo estado de fosforilação das aquaporinas, ou seja, pela adição ou remoção de grupos fosfatos de resíduos de aminoácidos específicos das proteínas dos canais de água. Essa regulação pode alterar a taxa de movimento da água, mas não muda a direção do movimento nem a força que o dirige.

A osmose pode ser demonstrada por um dispositivo conhecido como osmômetro. Este se constitui do fechamento de uma das extremidades de um tubo contendo uma solução de sacarose com uma membrana semipermeável (Fig. 1.6A). Quando o conjunto é colocado dentro da água pura, ocorre um aumento do volume de solução no tubo devido à maior passagem de água do recipiente para o tubo, que é a osmose. Isso ocorre porque o potencial químico da água na solução é menor do que o da água pura. O movimento de água através da membrana diminui gradualmente, em parte devido à diluição da solução no tubo e, em parte, à pressão hidrostática exercida pelo aumento do volume de água no interior do osmômetro. Tanto a diluição quanto a pressão hidrostática contribuem para o aumento do potencial químico da água no tubo, diminuindo em consequência o gradiente. O equilíbrio é estabelecido quando a pressão hidrostática neutraliza o efeito da presença da sacarose, fazendo com que o gradiente de potencial químico da água desapareça.

O osmômetro mostra que a osmose não é dirigida somente pela concentração de soluto dissolvido, mas também por pressões a que os sistemas podem ser submetidos. Sendo assim, a solução do tubo pode ser pressionada, possibilitando medir a força necessária para impedir qualquer aumento no volume do tubo (Fig. 1.6B). Essa força, medida em unidades de pressão (força por unidade de área), é igual à pressão osmótica exercida pela solução de açúcar.

Não sendo colocada em um osmômetro, uma solução isoladamente não apresenta pressão osmótica (π), possuindo somente o potencial para manifestar essa pressão. Por essa razão, diz-se que as soluções têm potencial osmótico (Ψ_{π}), que é uma de suas propriedades, cujo valor é o mesmo da pressão osmótica, mas com sinal negativo, pois apresentam forças iguais porém opostas. Ainda neste capítulo, será abordado mais detalhadamente o potencial osmótico.

Análogo ao osmômetro é o comportamento das células das plantas. Quando células flácidas, ou seja, com baixa pressão de turgor, são colocadas em água, no início a absorção é rápida, diminuindo lentamente até chegar ao equilíbrio dinâmico, cessando a absorção líquida de água. Nesse ponto, a energia livre da água fora e dentro da célula é a mesma. Embora haja uma maior concentração de água livre do lado de fora da célula, o aumento da pressão de turgor no interior da célula vai balancear essa diferença, possibilitando o equilíbrio da célula vegetal com a água pura. O estado de energia livre da água representa o seu potencial químico, que é, na verdade, a força que dirige o movimento da água nas plantas. Essa força é composta, pois, como foi visto, a

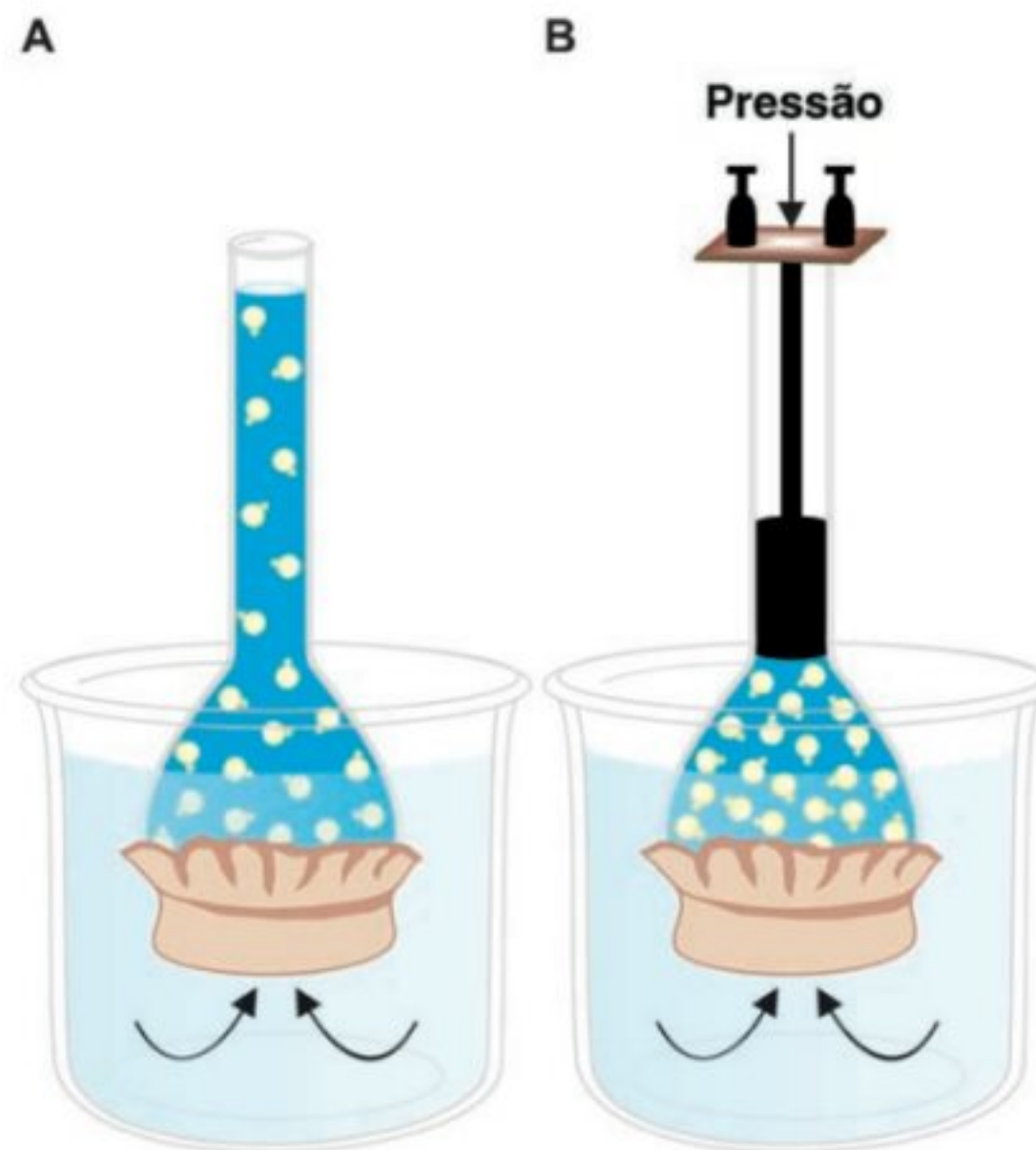


FIGURA 1.6

Representação do osmômetro, utilizado para demonstrar a osmose. Difusão da água através da membrana semipermeável em resposta ao gradiente de potencial químico da água. **A.** Início da osmose. **B.** Pressão aplicada acelerando o equilíbrio dinâmico (movimento pela membrana em ambas as direções se igualam).

osmose é dirigida por gradiente de concentração, como a difusão, e por gradiente de pressão, como o fluxo em massa. Por isso, na prática, essa força é expressa como gradiente de potencial químico ou, mais comumente, pelos fisiologistas de plantas, como gradiente de potencial de água.

POTENCIAL QUÍMICO

Para melhor conhecer o potencial químico, já mencionado nos itens sobre difusão e osmose, são importantes algumas considerações a respeito de energia livre. Afinal, potencial químico é definido como a quantidade de energia livre por mol de qualquer substância.

Energia livre é a energia de um sistema qualquer que está disponível para realizar trabalho a temperatura e pressão constantes. Esse conceito, criado por Josiah Willard Gibbs e colaboradores entre 1876 e 1878, é muito importante para aplicação dos conhecimentos de termodinâmica nos estudos de relação água-planta e para as reações metabólicas. As células e, conseqüentemente, as plantas usam “energia livre” no seu funcionamento. Essa energia, conhecida como energia livre de Gibbs (G), é definida pela seguinte equação:

$$G = E + PV - TS \quad (1.2)$$

onde E é a energia interna, correspondendo à energia potencial associada à capacidade de um sistema realizar trabalho, também

conhecida como entalpia, uma importante parte da energia livre. PV é o produto da pressão (P) multiplicada pelo volume (V). TS é o produto da temperatura absoluta (T) multiplicada pela entropia (S). Entropia diz respeito à desorganização do sistema, que sempre aumenta para o universo como um todo, sendo influenciada pela temperatura.

Na equação básica de G (equação 1.2), a energia interna total (E), a temperatura e pressão constantes, é subtraída pelo fator de entropia (TS). No entanto, exceto para um sistema no zero absoluto (0 K ou -273°C), condição em que a entropia é considerada zero (sistema totalmente organizado), não existem maneiras de calcular valores absolutos para a entropia (S) e para a energia interna (E). Mas pode-se calcular a variação da entropia (ΔS) e da energia interna (ΔH) que ocorre em um sistema em relação aos seus circunvizinhos, devido a vários processos químicos e físicos. Desse modo, a equação 1.2 pode ser simplificada para:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1.3)$$

onde ΔG , ΔH e ΔS são, respectivamente, as variações da energia livre, da energia interna ou entalpia e da entropia. T é temperatura absoluta.

A entropia é uma forma de avaliar a energia que não é convertida em trabalho. Para qualquer reação química espontânea a entropia deve aumentar, assim como acontece, de acordo com a 2ª lei da termodinâmica, com toda transformação energética. Considerando que a entropia é subtraída da energia interna na equação 1.3, todo sistema tenderá a evoluir no sentido de minimizar a energia livre de Gibbs (sob temperatura e pressão constantes). Sendo assim, o valor de ΔG , na equação 1.3, é uma medida da energia disponível para que ocorra reação, ou seja, realização de trabalho.

Para estudar a quantidade de energia livre que um sistema qualquer tem para realizar trabalho, é conveniente considerar a energia livre da substância que constitui o sistema, em relação a alguma unidade quantitativa da substância. Pois um grande volume de água tem mais energia livre do que um pequeno, sob condições idênticas. Sendo assim, Gibbs desenvolveu um conceito que combina energia livre com a quantidade da substância, chamado de potencial químico, simbolizado pela letra grega μ . A quantidade que foi definida é o mol, peso molecular em gramas. Logo, potencial químico de uma substância é a energia livre parcial molal de Gibbs, o mesmo que energia mol^{-1} , dessa substância dentro da solução. Esse potencial é considerado a força motriz para a realização de trabalho.

Pode-se definir potencial químico da água como a sua energia livre para realizar trabalho em um sistema aquoso, por mol de água. Como qualquer outra substância, a água move-se de uma região de maior para uma de menor potencial químico.

Tanto para a água quanto para qualquer outra substância, o potencial químico é claramente dependente de vários fatores, como a concentração (ou atividade química), pressão, potencial elétrico e efeito da gravidade. O impacto dos vários fatores sobre o potencial químico pode ser sumariado pela soma dos vários componentes (Nobel, 1991):

$$\mu = \mu^* + RT \ln a + zFE + VP + mgh \quad (1.4)$$

Não se tem como calcular um valor absoluto para o potencial químico, visto que ele é definido a partir da energia livre de Gibbs, que tem no seu conceito as também incalculáveis energia interna e entropia, como descrito anteriormente. Mas, também neste caso, pode-se calcular a variação do potencial químico de um sistema em relação a outro, tornando-se esse potencial uma quantidade relativa. Sendo assim, um nível de referência, μ^* , é incluído na equação 1.4. Como o mais importante para os fisiologistas de plantas é o gradiente de potencial químico ($\mu - \mu^*$), quando isso é feito, o μ^* desaparece. A unidade de μ e μ^* é energia por mol de substância, como, por exemplo, joule mol^{-1} ou caloria mol^{-1} .

Na equação 1.4 o $RT \ln a$ (R = constante universal dos gases, T = temperatura absoluta e a = atividade química) é a contribuição da concentração (ou atividade química) para o potencial químico. O zFE (z = carga elétrica líquida, F = constante de Faraday e E = potencial elétrico) diz respeito ao componente elétrico e pode ser ignorado para a água, pois, a despeito de sua forte natureza dipolar, a carga líquida da água é zero.

O VP representa o efeito da pressão sobre o potencial químico. V é o volume parcial molal, ou volume ocupado por um mol de substância, para a água 18 cm^3 ou ml por mol de água. Medidas em fisiologia vegetal são feitas em sistemas sujeitos à pressão atmosférica, sendo assim conveniente definir P como a pressão que excede a atmosférica. Em célula vegetal, a presença de paredes celulares rígidas permite o desenvolvimento de significativa pressão hidrostática.

A contribuição do campo gravitacional é dada por mgh (m = massa da substância, g = aceleração devido à gravidade e h = altura).

A adição de solutos em uma solução aquosa tende a diminuir a atividade da água (a_w), causa aumento da pressão osmótica (π), como visto no item sobre osmose, e diminui o potencial químico (μ). Isso mostra que a π e a a_w mudam em direções opostas e podem ser expressas da seguinte forma:

$$RT \ln a_w = -V_w \pi \quad (1.5)$$

onde o w subscrito refere-se à água. Substituindo a equação 1.5 na equação 1.4, desprezando o componente elétrico já que se trata de água, tem-se:

$$\mu_w - \mu_w^* = -V_w \pi + V_w P + m_w g h \quad (1.6)$$

De acordo com a equação 1.6, a dimensão em que o potencial químico da água em uma solução (μ_w) difere do potencial químico da água pura (μ_w^*) que seria o gradiente, um valor relativo fácil de ser medido, é uma função do componente osmótico, da pressão e para grandes árvores do componente gravitacional. No exemplo do osmômetro, após o equilíbrio dinâmico, essas forças se anulam de forma que a solução entra em equilíbrio com a água pura, ou seja, $\mu_w - \mu_w^* = 0$.

POTENCIAL DE ÁGUA

Nota-se, na equação 1.6, que o potencial químico é mais facilmente quantificável como uma medida relativa e é expresso como

a diferença entre o potencial químico de uma substância num dado estado e o potencial químico da mesma substância em um estado padrão; no caso da água, $\mu_w - \mu_w^*$. Ainda que o valor de $\mu_w - \mu_w^*$ seja mais facilmente medido, os fisiologistas de plantas simplificaram ainda mais, introduzindo o conceito de potencial de água, simbolizado pela letra grega ψ em maiúsculo com w subscrito, Ψ_w . O potencial de água é proporcional ao $\mu_w - \mu_w^*$ e pode ser definido a partir de um rearranjo da equação 1.6:

$$\Psi_w = \frac{(\mu_w - \mu_w^*)}{V_w} = P - \pi + \rho_w gh \quad (1.7)$$

onde P é a pressão hidrostática, π é a pressão osmótica e ρ_w é a densidade da água, que é dada por m_w/V_w . Por essa equação, um aumento na pressão hidrostática aumenta o Ψ_w , enquanto um aumento da pressão osmótica o diminui.

De conformidade com a equação 1.7, o Ψ_w é definido como a diferença do potencial químico da água numa condição qualquer daquele da água líquida pura em estado padrão (sob pressão atmosférica e a mesma temperatura) dividido pelo volume parcial molal (V_w), que é o volume de 1 mol de água ($18 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ou $18 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$), considerado uma constante em faixas biológicas de temperatura e concentração.

Considerando que o potencial químico é definido a partir da energia livre de Gibbs, também se pode definir potencial de água como a energia livre por mol de água num sistema qualquer menos a energia livre por mol da água pura, em estado padrão. Sendo assim, o potencial de água expressa a capacidade de o sistema sendo considerado realizar trabalho, comparado com aquela em uma quantidade comparável de água pura, em estado padrão.

A unidade de potencial químico, energia livre por mol, é inconveniente em discussões de relação água-célula e água-planta. É mais conveniente usar unidades de energia por unidades de volume. Essas medidas são compatíveis com unidades de pressão (muito convenientes) e foram obtidas a partir da definição do potencial de água quando se dividiu $\mu_w - \mu_w^*$ (erg mol⁻¹) por V_w (cm³ mol⁻¹). Pois $10^6 \text{ ergs cm}^{-3} = 1 \text{ bar} = 10^5 \text{ Pa} = 0,987 \text{ atm}$. Bares, pascal e atmosfera são unidades de pressão. A unidade mais usada para expressar o potencial de água é megapascal (como definido anteriormente, $1 \text{ MPa} = 10 \text{ bares} = 9,87 \text{ atm}$). Na prática é bem mais fácil medir mudanças de pressão do que medir a energia requerida para movimentar a água. Além disso, o conceito de potencial de água tem sido amplamente aceito porque evita a dificuldade de medir a atividade química.

Por definição, o Ψ_w da água pura é igual a zero, uma vez que o numerador da equação 1.7 $\mu_w - \mu_w^*$ é zero. As medidas do potencial de água são sempre comparadas a esse Ψ_w igual a zero, que é o da água líquida e livre, à pressão atmosférica, à mesma temperatura do sistema sendo medido e a um nível zero para o componente gravitacional. Isso não quer dizer que a atividade química da água nessas condições seja também zero; ao contrário, ela é bastante alta, pois, quando pura, a água tem grande capacidade de reação. Tendo a água livre um $\Psi_w = 0$, usado como referência, na maioria dos casos o Ψ_w dentro das células das plantas é *negativo*, assim como em qualquer outra solução aquosa.

O Ψ_w indica quanto a energia livre de um sistema difere daquele do estado de referência. Essa diferença é a soma das forças do soluto ($-\pi = \Psi_\pi$), pressão ($P = \Psi_p$) e gravidade ($\rho_w gh = \Psi_g$) agindo sobre a água:

$$\Psi_w = \Psi_\pi + \Psi_p + \Psi_g \quad (1.8)$$

conseqüentemente, a água caminha no sistema solo-planta-atmosfera a favor de um gradiente de potencial de água. Nesse processo a energia livre diminui, logo, é espontâneo.

Componentes do potencial de água

No item anterior, foi definido o potencial de água e considerados três dos seus componentes: o potencial de pressão (Ψ_p), o potencial osmótico (Ψ_π) e o potencial gravitacional (Ψ_g). Esses componentes indicam os efeitos da pressão, solutos e gravidade, respectivamente, sobre a energia livre da água.

POTENCIAL DE PRESSÃO (Ψ_p)

O Ψ_p é idêntico ao P da equação 1.7 e representa a pressão hidrostática que difere da pressão atmosférica do ambiente, ou seja, uma vez que o Ψ_w de referência (água pura) é considerado em pressão atmosférica, por definição, nessas condições, o Ψ_p é igual a zero. Pressão positiva aumenta o Ψ_w e a negativa o reduz. Quando nos referimos à *pressão hidrostática dentro das células*, o Ψ_p é *usualmente chamado de pressão de turgor e tem valor positivo*. A pressão de turgor resulta da água que chega ao protoplasto, pressionando-o contra a parede celular que resiste à expansão. Células com pressão de turgor são ditas túrgidas e sem turgor são ditas flácidas. Em plantas herbáceas, a pressão de turgor tem grande importância na manutenção do hábito ereto; perda de pressão de turgor resulta em murchamento.

O Ψ_p pode assumir valores negativos (conhecidos como *tensão*) quando a pressão está abaixo da atmosférica. Isso ocorre com frequência em elementos de vaso do xilema de plantas transpirando. Essas pressões negativas são muito importantes no movimento da água a longas distâncias através da planta, o que será visto mais adiante.

POTENCIAL OSMÓTICO (Ψ_π)

Como já foi mencionado, o potencial osmótico é uma propriedade das soluções; portanto, seu uso é preferível se comparado ao termo pressão osmótica. O Ψ_π diz respeito ao efeito do soluto dissolvido sobre o Ψ_w ; quando diluídos em água, os solutos reduzem a energia livre do sistema. Em qualquer condição que não haja soluto, como água pura, o Ψ_π é zero; isso significa que a presença de solutos reduzirá o Ψ_π , que assumirá valores *negativos*.

Sendo o componente produzido pelas substâncias dissolvidas nas células, o Ψ_π é uma resposta principalmente ao conteúdo dos vacúolos, característicos da maioria das células vegetais, e que geralmente apresentam valores na faixa de $-0,1$ a $-0,3 \text{ MPa}$. Para soluções "ideais" ou diluídas de substâncias não dissociáveis, o Ψ_π pode ser estimado pela equação de van't Hoff:

$$\Psi_{\pi} = -Rtc_s \quad (1.9)$$

onde R é a constante dos gases (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹), t é a temperatura absoluta (em K) e c_s é a concentração do soluto na solução, expressa como osmolalidade (moles totais de soluto dissolvido por litro de água, mol L⁻¹). O sinal negativo indica que os solutos reduzem o Ψ_w da solução. Como exemplo, utilizando-se dessa equação, para uma solução de sacarose de 0,1 M a 20°C, o $\Psi_{\pi} = -0,244$ MPa. Para solutos iônicos que se dissociam em duas ou mais partículas, c_s deve ser multiplicado pelo número de partículas dissociadas. Geralmente em estudos envolvendo células vegetais, considera-se que estas se comportam como soluções ideais.

POTENCIAL GRAVITACIONAL (Ψ_g)

Na equação 1.7, $\rho_w gh$ é igual ao Ψ_g e tem sido quase sempre desprezado. A sua importância é insignificante dentro das raízes ou folhas, mas ele se torna significativo para movimentos de água em árvores altas. O movimento ascendente em um tronco de árvore deve vencer uma força gravitacional de aproximadamente 0,01 MPa m⁻¹.

POTENCIAL MÁTRICO OU MATRICIAL (Ψ_m)

Sólidos ou substâncias insolúveis em contato com água pura ou solução aquosa atraem moléculas de água e diminuem o Ψ_w . Esse componente é denominado de potencial mátrico, que pode ser zero ou apresentar valores negativos, uma vez que diminui a energia livre da água. Em discussões de solos secos, sementes e paredes celulares, freqüentemente se encontram referências a mais esse componente do Ψ_w . O Ψ_m é particularmente importante em estágios iniciais de absorção de água pelas sementes secas (embebição) e quando se considera a água retida no solo. Existe também o componente matricial nas células (moléculas higrófilas, p. ex., proteínas); todavia, sua contribuição para o potencial de água é relativamente pequena comparada à do Ψ_{π} .

Não obstante as considerações feitas, a equação completa incluindo todos os componentes que podem influenciar na quantidade de energia livre da água, ou seja, no Ψ_w , é a seguinte:

$$\Psi_w = \Psi_{\pi} + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g \quad (1.10)$$

MOVIMENTO DA ÁGUA ENTRE CÉLULAS E TECIDOS

Os espaços dentro das células (citoplasma e vacúolos) são chamados de *simplasto*, enquanto os externos à membrana plasmática, de *apoplasto*. Quando a célula se encontra em equilíbrio, o Ψ_w é o mesmo no vacúolo, citoplasma e parede celular. Entretanto, os componentes do Ψ_w podem diferir marcadamente entre essas fases. Para a água no vacúolo e citoplasma (água no simplasto), os componentes dominantes são usualmente o Ψ_p e Ψ_{π} , com o Ψ_p tendo quase sempre valor positivo. No apoplasto que inclui a água nas paredes e no lume das células mortas, tais como elementos de vaso, traqueídeos e fibras, o componente

dominante é o Ψ_p , com Ψ_{π} e Ψ_m contribuindo para o Ψ_w , sobretudo, na região imediatamente adjacente à superfície carregada das paredes. Portanto, quando se estuda o transporte de água nas células vegetais, a equação 1.10 é usualmente simplificada para:

$$\Psi_w = \Psi_{\pi} + \Psi_p \quad (1.11)$$

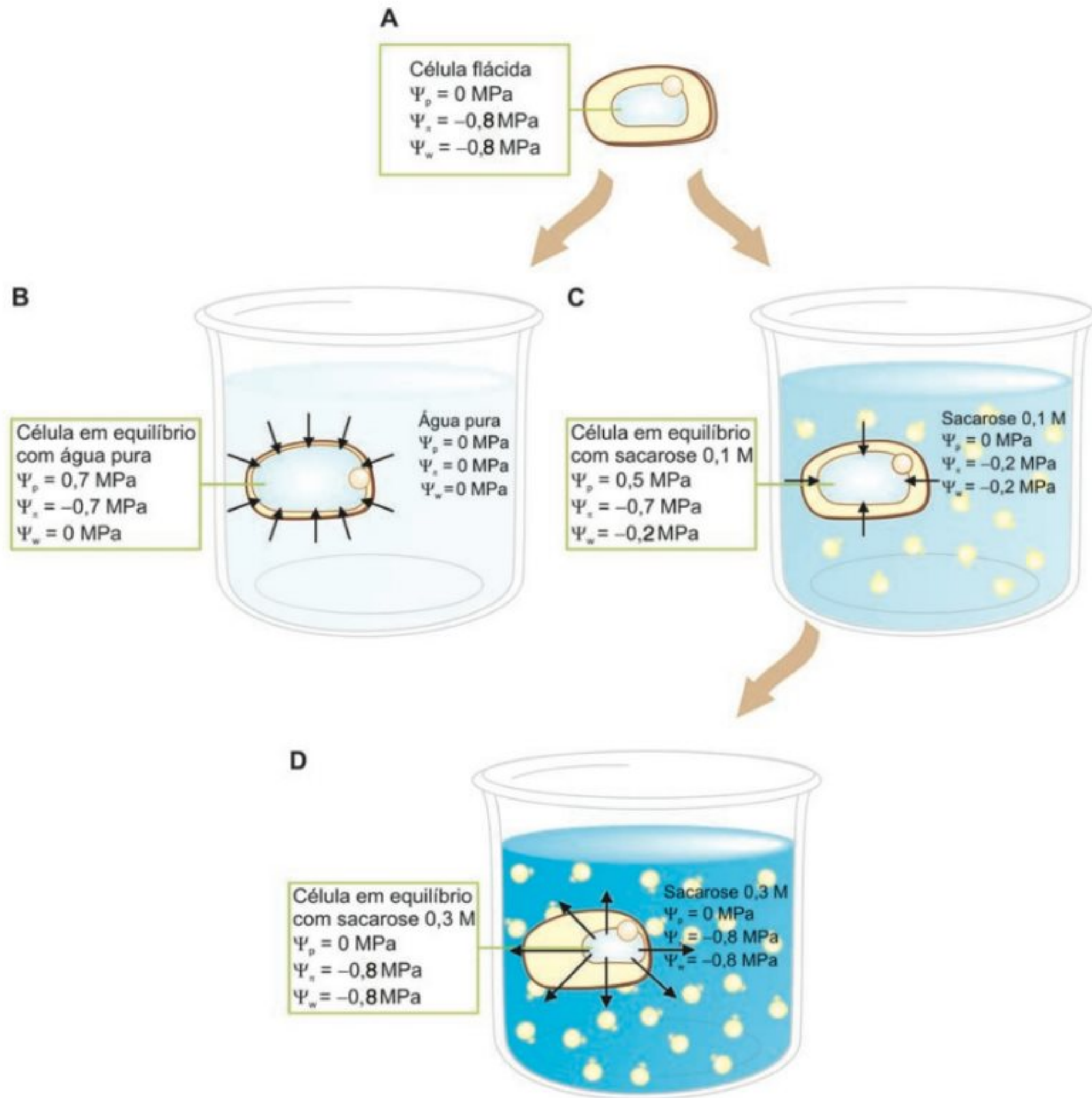
sendo o componente gravitacional (Ψ_g) ignorado para distâncias verticais menores do que 5 m.

Semelhante ao demonstrado com o osmômetro, os movimentos de entrada e de saída de água das células ocorre por osmose. O comportamento osmótico das células pode ser facilmente visualizado com a imersão de uma célula vegetal em soluções com diferentes potenciais da água. Num recipiente com água pura ou com solução aberta para a atmosfera, a pressão hidrostática da água é a mesma da pressão atmosférica ($\Psi_p = 0$ MPa). No caso da água pura o $\Psi_{\pi} = 0$ MPa, logo o $\Psi_w = 0$ MPa ($\Psi_w = \Psi_{\pi} + \Psi_p$) (Fig. 1.7B).

Quando uma célula vegetal é colocada em água pura, a água mover-se-á para dentro da célula até o Ψ_w da célula igualar a zero (Fig. 1.7A e B). Nessa condição de equilíbrio, a célula atinge o turgor total. Se uma célula com $\Psi_w = -0,8$ MPa for imersa em uma solução de sacarose a 0,1 M com $\Psi_w = -0,2$ MPa, ocorrerá também absorção de água até o Ψ_w da célula atingir $-0,2$ MPa, ou seja, igualar-se ao da solução (Fig. 1.7C). No entanto, nesse ponto a célula não vai atingir o turgor total. Nessas condições de equilíbrio o Ψ_p (0,5 MPa) da célula vai ser menor “em módulo” que o seu Ψ_{π} ($-0,7$ MPa). Logo, o Ψ_w da célula, assim como o da solução, será negativo, ambos com valor igual a $-0,2$ MPa. Diferente disso é o que ocorre com a célula em equilíbrio com a água pura, onde o Ψ_{π} ($-0,7$ MPa) se iguala ao Ψ_p (0,7 MPa) “em módulo” e o Ψ_w da célula atinge o valor zero (Fig. 1.7B e C).

Mesmo um ligeiro aumento no volume causa uma considerável elevação da pressão hidrostática dentro das células vegetais, devido à presença de paredes celulares relativamente rígidas. Na Fig. 1.7B e C, o Ψ_p (0,7 e 0,5 MPa, respectivamente) da célula em equilíbrio com o meio é sempre maior que aquele da célula (0 MPa) antes da imersão (Fig. 1.7A). A parede celular resiste ao aumento da pressão interna exercendo uma pressão contrária sobre a célula. Assim, a entrada de água na célula provoca um aumento da pressão hidrostática ou pressão de turgor (Ψ_p), aumentando conseqüentemente o Ψ_w . Considerando que as células vegetais possuem paredes celulares bastante rígidas, conclui-se que pouca água deve entrar. Pode-se então supor que o Ψ_{π} da célula varia pouco durante o processo até o equilíbrio. As relações entre Ψ_p , Ψ_{π} e Ψ_w de uma célula isolada imersa em água pura são ilustradas na Fig. 1.8.

O formato exato das curvas da Fig. 1.8 depende da rigidez da parede celular. Se a parede for muito rígida, uma pequena mudança no volume causa uma grande mudança na pressão de turgor (Ψ_p). A rigidez da parede pode ser medida pelo coeficiente de elasticidade, simbolizado por ϵ (letra grega epsilon). A propriedade de elasticidade da parede é dada pela mudança na pressão hidrostática ($\Delta\Psi_p$), dividida pela mudança relativa no volume ($\Delta v/v$), que é:

**FIGURA 1.7**

Movimentos da água de célula imersa em diferentes meios para ilustrar os conceitos de potencial de água e seus componentes. **A.** Célula vegetal flácida antes da imersão com $\Psi_p = 0$. **B.** Célula imersa em água pura absorverá água, visto que o seu potencial de água é menor. Após certo período ocorrerá o equilíbrio (aumento do Ψ_p , turgor total) e a célula atingirá $\Psi_w = 0$ ($\Psi_\pi = \Psi_p$ em módulo). **C.** Após imersão e equilíbrio com solução de sacarose 0,1 M a célula apresentará menor Ψ_p e Ψ_w do que em B ($\Psi_p < \Psi_\pi$ em módulo), sem atingir turgor total. **D.** Em equilíbrio com solução de sacarose 0,3 M, a célula voltará a ter $\Psi_p = 0$ e diminuirá ainda mais o Ψ_w (célula flácida). No equilíbrio, o potencial de água de fora (Ψ_{wf}) sempre é igual ao de dentro da célula (Ψ_{wd}) ($\Delta\Psi_w = \Psi_{wf} - \Psi_{wd} = 0$).

$$\varepsilon = \frac{\Delta\Psi_p}{\Delta v/v} \quad (1.12)$$

o coeficiente de elasticidade, ε , é a inclinação da curva do Ψ_p na Fig. 1.8, logo, é expresso em unidades de pressão, com valor típico na ordem de 10 MPa. Valores altos de ε indicam paredes rígidas relativamente pouco elásticas, enquanto pequenos valores indicam paredes mais elásticas.

Retirando-se a célula em equilíbrio com a solução de sacarose 0,1 M (Fig. 1.7C) e imergindo-a numa solução de sacarose 0,3 M,

portanto com um valor de Ψ_π menor (mais negativo), a água mover-se-á para fora da célula em resposta ao gradiente de Ψ_w . No equilíbrio, a célula tornar-se-á flácida, e o Ψ_p será zero, diminuindo assim o volume e o Ψ_w da célula (Fig. 1.7D). O ponto em que o protoplasto deixa de pressionar a parede celular ($\Psi_p = 0$ e $\Psi_\pi = \Psi_w$) é chamado de *plasmólise incipiente*. Plasmólise é a condição em que o protoplasto se desprende da parede celular; essencialmente é um fenômeno de laboratório, com possíveis exceções em condições extremas de estresse salino ou de água, que raramente ocorrem na natureza. Independentemente da

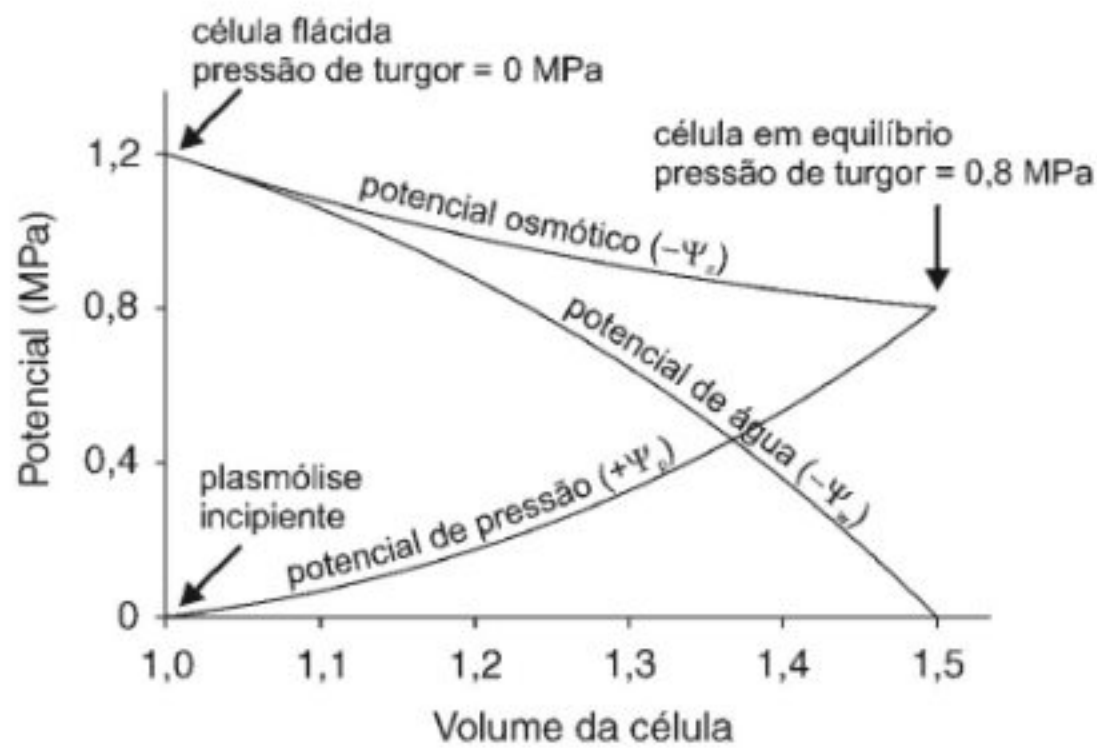


FIGURA 1.8

Aumento no potencial de água em uma célula flácida até o equilíbrio, após ser colocada em água pura. Notar que, para o potencial osmótico e o de água, os valores são negativos, e para o potencial de pressão são positivos. (Diagrama de Höfler modificado.)

situação que foi apresentada na Fig. 1.7, no equilíbrio o movimento de água para dentro e para fora é igual, e o fluxo líquido é zero.

O ponto comum de todos os exemplos apresentados na Fig. 1.7 é que o movimento da água é passivo. A água move-se, em resposta a forças físicas, de uma região de maior para outra de menor potencial de água ou energia livre. Assim também é o movimento por simples difusão que ocorre entre células conectadas por plasmodesmas. Conseqüentemente, dentro de um grupo estruturalmente homogêneo de células, tal como o parênquima, células individuais podem ter diferentes valores de Ψ_w , mas, quando o tecido está em equilíbrio, o valor de Ψ_w é o mesmo para todas as células.

Como visto no parágrafo anterior, a força que dirige o movimento da água é o gradiente de potencial de água ($\Delta\Psi_w$), mas o que determina a taxa em que a água se move depende, além da $\Delta\Psi_w$ entre a célula e o ambiente que a envolve, da permeabi-

lidade da membrana à água, uma propriedade conhecida como condutividade hidráulica (L_p) da membrana. A força que dirige o movimento ($\Delta\Psi_w$), a permeabilidade da membrana (L_p) e a taxa em que o fluxo ocorre (J_v) estão relacionadas pela seguinte equação:

$$J_v = L_p (\Delta\Psi_w) \quad (1.13)$$

A condutividade hidráulica expressa a capacidade da água de mover-se através da membrana, envolvendo unidades de volume, de área da membrana, de tempo e de gradiente de potencial de água (p. ex., $\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ou $\text{m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$). Quanto maior for a condutividade hidráulica, maior será a taxa do fluxo. O fluxo (J_v) é o volume de água atravessando a membrana por unidade de área de membrana por unidade de tempo ($\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou m s^{-1}). Quando o movimento de água for de célula para célula através dos plasmodesmas, a orientação é dada apenas pelo $\Delta\Psi_w$.

Além da essencialidade do conceito de potencial de água como fator que governa o transporte da água no sistema solo-planta-atmosfera, ele é importante também como medida do estado de hidratação das plantas. Esse estado pode variar tanto entre espécies de diferentes extratos numa formação vegetal, quanto para as mesmas espécies em diferentes estações (Fig. 1.9). Uma deficiência de água no solo e, em conseqüência, na planta inibe o crescimento por afetar processos da fotossíntese, abertura estomática, síntese protéica, síntese de parede, expansão celular, entre outros.

ÁGUA NO SOLO

Tanto a água utilizada pelas plantas nas suas funções vitais quanto a que é perdida para a atmosfera por transpiração provêm do solo. As plantas absorvem água do solo pelas raízes e translocam até as folhas, onde é perdida para a atmosfera, estabelecendo uma coluna contínua de água no sistema solo-planta-atmosfera, obedecendo a um gradiente decrescente de Ψ_w (Fig. 1.10). É importante para o entendimento de todo esse movimento da água uma abordagem sucinta a respeito da natureza dos solos,

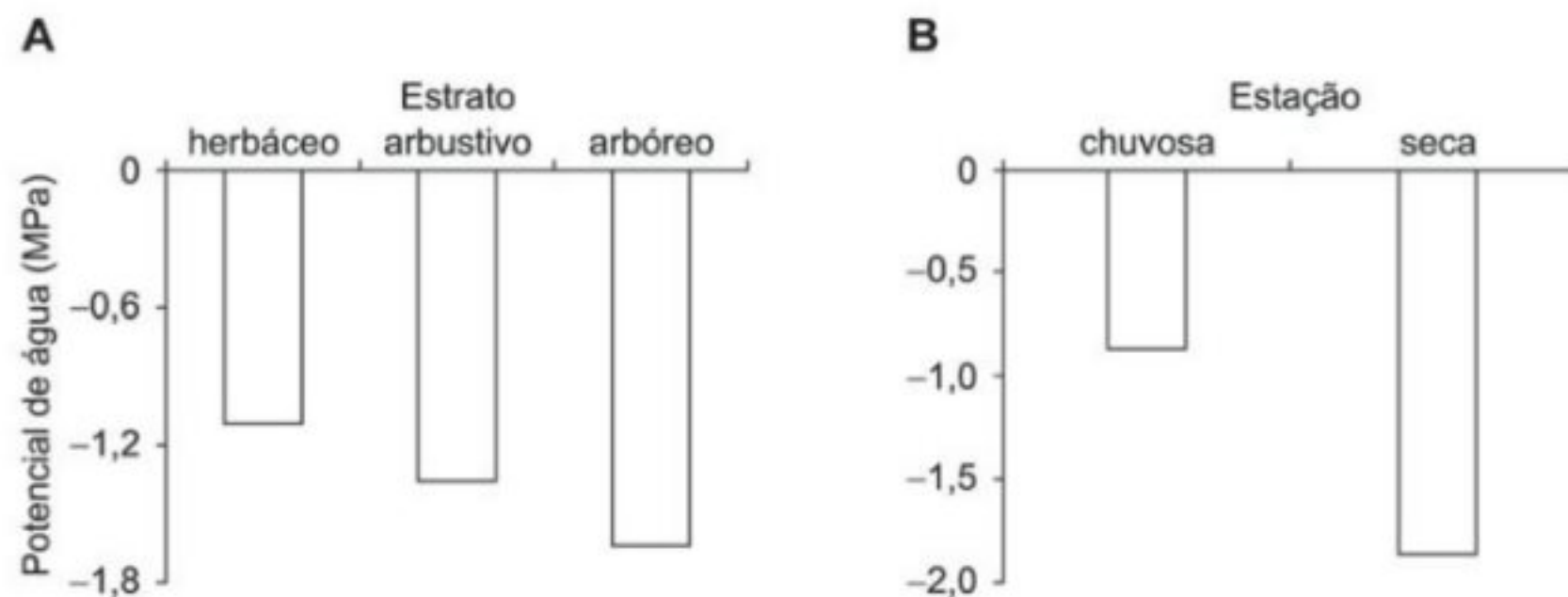


FIGURA 1.9

Potencial de água de nove espécies de plantas pertencentes a um cerradão do município de São Carlos (Brasil). **A.** Valores médios obtidos para espécies pertencentes a diferentes estratos. **B.** Valores médios obtidos para as nove espécies na estação seca e na chuvosa. (Modificado de Perez & Moraes, 1991.)

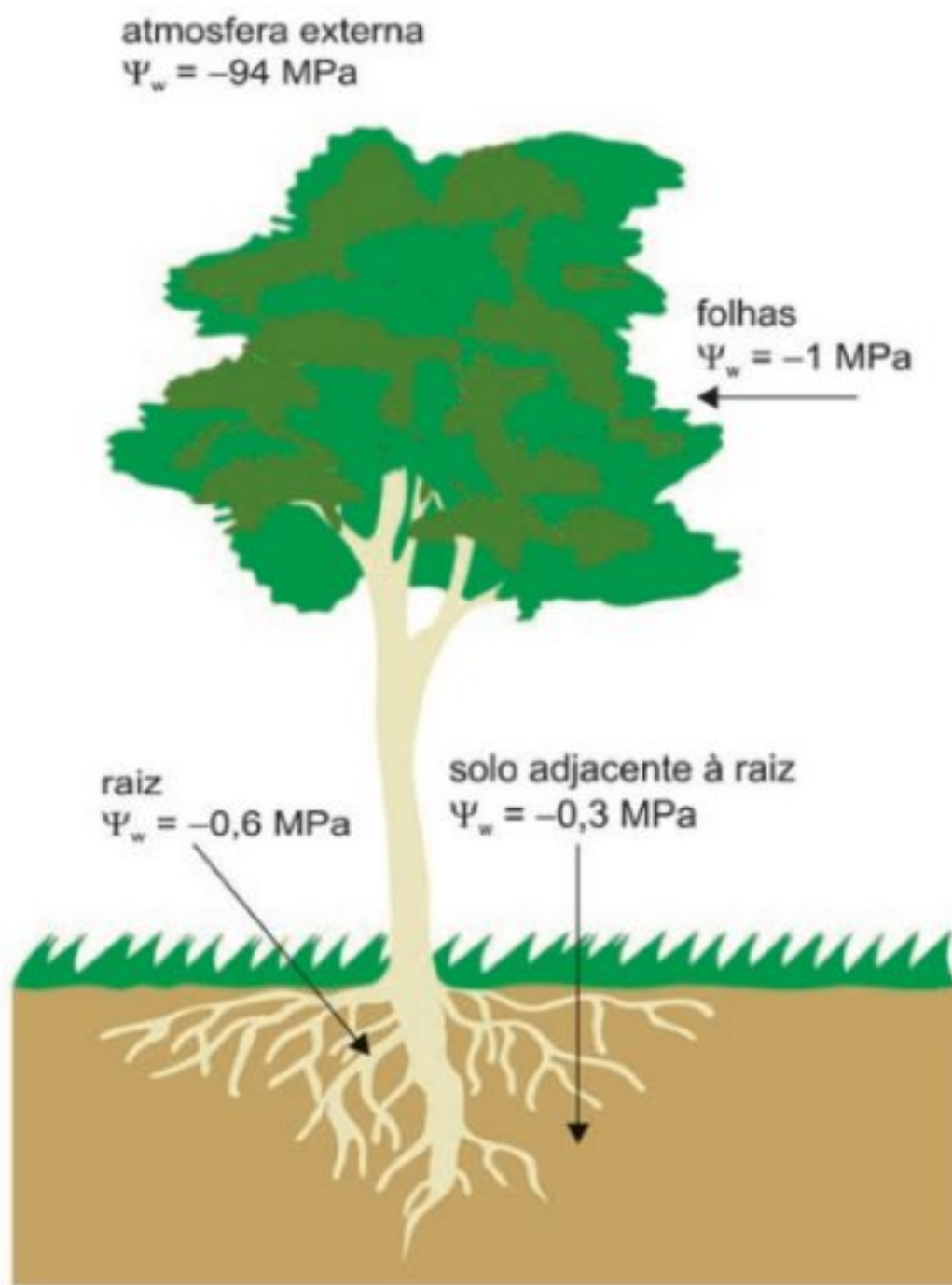


FIGURA 1.10

Varição dos valores de Ψ_w entre o solo, as raízes, as folhas e a atmosfera. A água se move espontaneamente do solo para a atmosfera, passando pela planta a favor de um gradiente de Ψ_w .

uma vez que o conteúdo de água e a taxa do movimento da água no solo dependem do tipo de solo e de sua estrutura.

O solo é um sistema complexo constituído de 3 fases: sólida, líquida e gasosa. A fase sólida (matriz) é constituída pelas frações mineral e orgânica. A fração mineral resulta da ação degradadora (intemperismo) de natureza física, química e biológica sobre as rochas, originando partículas de diferentes tamanhos (Tabela 1.3) que irão constituir a estrutura do solo. A fração orgânica, mais conhecida como matéria orgânica do solo ou húmus, resulta da decomposição biológica de animais, microrganismos e principalmente vegetais. Em equilíbrio com a fase sólida, encontra-se a fase líquida do solo, constituída de uma solução aquosa diluída. A fase gasosa geralmente está em equilíbrio com a atmosfera.

TABELA 1.3 Características físicas de diferentes solos		
Solo	Diâmetro da partícula (mm)	Área superficial por grama (m ²)
Areia fina	0,2-0,05	<1-10
Silte	0,05-0,002	10-100
Argila	<0,002	100-1.000

A estrutura do solo afeta a porosidade, a qual está ligada diretamente à retenção da água e à aeração. Solos arenosos têm relativamente baixa área superficial por grama de solo, com espaços relativamente grandes, ou canais entre as partículas, exatamente o oposto de um solo argiloso. Portanto, solos argilosos que apresentam microporos ou poros capilares reterão mais água do que solos arenosos, que apresentam poros de maior diâmetro.

Quando um solo recebe grande quantidade de água, seja por chuva ou por irrigação artificial, os poros ficam saturados, diminuindo parcial ou totalmente os espaços aéreos. O excesso de água é drenado livremente por gravidade, e o restante permanecerá retido nas camadas superficiais do solo. O conteúdo de água do solo que permanece retido por capilaridade após o excesso de água ter sido drenado livremente é denominado *capacidade de campo* (CC), que é expressa em gramas de água por 100 ml de solo. Sob condições naturais, podem ser necessários 2 a 3 dias para um solo argiloso retornar à CC após um período de muita chuva.

Pelo fato de o solo argiloso apresentar maior quantidade de poros menores, ele possui maior capacidade de estocar água, ou seja, maior CC do que o solo arenoso. Sendo assim, o solo arenoso apresenta baixa capacidade de campo e é bem aerado, enquanto o solo argiloso tem alta CC, mas é menos aerado. O ideal para o desenvolvimento das plantas é uma estrutura de solo que represente um balanceamento entre retenção de água e aeração.

Assim como nas células, o potencial de água (Ψ_w) da solução do solo pode ser considerado como tendo dois componentes, o potencial osmótico (Ψ_π) e o potencial de pressão (Ψ_p). Quanto mais seco estiver o solo, menor será o seu Ψ_w . Na maioria dos solos, em razão de a fase líquida ser bastante diluída, o Ψ_π da solução é geralmente desprezível, aproximando-se de zero, algo em torno de $-0,02$ MPa. Portanto, exceto em solos salinos onde o Ψ_π pode atingir valores até menores que $-0,2$ MPa, o Ψ_w do solo é determinado principalmente pelo potencial de pressão negativo ($-\Psi_p$).

Para solos úmidos, o Ψ_p encontra-se próximo a zero; no entanto, à medida que água é evaporada e não é repostada, o Ψ_p diminui, reduzindo conseqüentemente o Ψ_w . Alguns textos atribuem essa diminuição do Ψ_w ao potencial mátrico (Ψ_m), e não ao Ψ_p negativo. Mas o Ψ_m do solo é devido primariamente à pressão local, causada pela capilaridade e interação da água com as superfícies sólidas do solo (ver Passioura, 1980). Neste capítulo será considerado o Ψ_p como o componente principal responsável pela diminuição do Ψ_w do solo.

A ocorrência do potencial de pressão negativo ($-\Psi_p$) no solo está ligada ao fato de a água apresentar alta tensão superficial. A água adsorvida pelo solo na CC ou abaixo desse ponto é encontrada em canais capilares ou espaços intersticiais entre partículas de solo. À medida que o solo vai secando, a água é primeiramente removida dos espaços maiores entre as partículas. Nessas condições, a água forma uma fina camada (filme) envolvendo a superfície das partículas. À medida que a água evapora desse filme, ou é absorvida pelas raízes, a interface ar-água retrai para os pequenos espaços entre as partículas do solo. Isso cria meniscos microscópicos com superfícies muito pequenas e curvas. O raio

dos meniscos diminui progressivamente, e a tensão superficial na interface ar-água gera uma crescente pressão negativa ($-\Psi_p$). Conseqüentemente, o conteúdo de água no solo, na ou abaixo da CC, estará sob tensão ($-\Psi_p$), e o potencial de água será negativo. O potencial de pressão negativo desenvolvido nas pequenas superfícies curvas pode ser estimado pela fórmula:

$$\Psi_p = \frac{-2T}{r} \quad (1.14)$$

onde T é a tensão superficial da água ($7,28 \times 10^{-8}$ MPa m⁻¹) e r é o raio de curvatura do menisco. Quando esse raio for bem pequeno, como ocorre nos solos secos, o valor do Ψ_p será muito negativo. Logo, a força com a qual a água do solo é retida aumenta consideravelmente à medida que, durante a secagem, os poros de maior diâmetro são esvaziados e a água permanece apenas nos poros mais finos.

Quando a água é removida do solo pelas raízes, próximo a elas, na rizosfera, pode ocorrer uma tensão ($-\Psi_p$) diminuindo o Ψ_w dessa região, o que facilita o movimento da água em direção às raízes. A taxa desse movimento de água no solo vai depender da magnitude do gradiente de pressão e da *condutividade hidráulica do solo*. Essa condutividade é uma medida da facilidade com que a água se move através do solo. Solo argiloso apresenta baixa condutividade hidráulica em razão dos seus pequenos espaços; o contrário é válido para o solo arenoso.

A absorção de água pelas plantas só ocorre se houver um gradiente favorável de Ψ_w entre o solo e as raízes (Fig. 1.10). Em um solo perdendo água permanentemente por evapotranspiração durante o dia, as plantas terão dificuldades crescentes de retirar água para balancear a perda por transpiração, levando a uma perda de pressão de turgor ou murchamento. No entanto, com a quase total interrupção da transpiração à noite, o turgor das plantas poderá ser recuperado.

Eventualmente, o conteúdo de água no solo pode chegar a um nível tão baixo (Ψ_w do solo se torna inferior ou igual ao Ψ_w das raízes), que, mesmo impedindo totalmente a perda de água, a planta não consegue recuperar a pressão de turgor. Esse nível é chamado de *ponto de murchamento permanente* (PMP). No PMP as plantas permanecem murchas, com pressão de turgor nula mesmo à noite, e o turgor só poderá ser recuperado se mais água for adicionada ao solo.

O valor real do PMP é relativamente baixo para solo arenoso (1 a 2%) e alto para solo argiloso (20 a 30%). Entretanto, independentemente do tipo de solo, o Ψ_w no PMP apresenta certa uniformidade. Na agricultura e na ciência dos solos, um Ψ_w do solo de $-1,5$ MPa é considerado norma para o PMP. Para outras espécies de interesse ecológico, o Ψ_w do solo no PMP pode variar entre -1 e -4 MPa. Desse modo, lembrando que o Ψ_π das células varia entre as espécies de plantas, diferentemente da CC, o PMP não deve ser considerado como uma propriedade unicamente do solo.

De uma maneira aproximada, estabeleceu-se que a disponibilidade de água do solo para as plantas está compreendida entre a CC e o PMP. Mas nem toda água nessa faixa está uniforme-

mente disponível, pois a retirada de água se torna progressivamente mais difícil à medida que o Ψ_w do solo diminui em direção ao PMP. Isso é facilmente observado em plantas submetidas à deficiência hídrica, que apresentarão sinais de estresse hídrico e redução no crescimento antes de o Ψ_w do solo chegar ao PMP. Assim como a retenção, a faixa de disponibilidade de água para as plantas é maior nos solos argilosos (com maior superfície) do que nos arenosos.

ABSORÇÃO E MOVIMENTO RADIAL DE ÁGUA NAS RAÍZES

Nas plantas, o sistema de raízes é tão complexo quanto a parte aérea em sua diversidade, apresentando muitas interações com a matriz do solo e com a grande quantidade de organismos que o circunda. O sistema de raízes exerce várias funções importantes, como sustentação da planta, armazenamento de reservas, síntese de substâncias importantes e absorção de nutrientes. Além disso, a maior parte da água que as plantas adquirem é absorvida através das raízes. Toda absorção da água ocorre devido a um gradiente decrescente de Ψ_w entre o meio em que as raízes se encontram e o xilema destas. O gradiente pode ser menor ou maior, dependendo da taxa de transpiração da planta. As principais forças envolvidas na absorção de água pelas raízes podem ser descritas como segue:

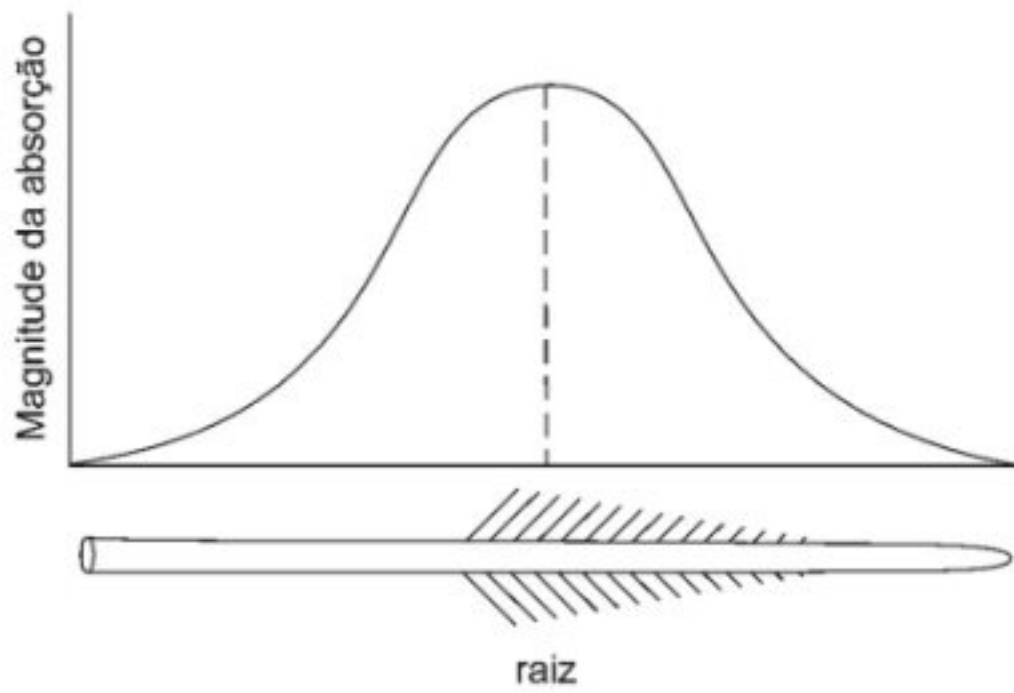
$$\text{absorção} = \frac{(\Psi_p + \Psi_\pi)_{\text{solo}} - (\Psi_p + \Psi_\pi)_{\text{raiz}}}{r_{\text{solo}} + r_{\text{raiz}}} \quad (1.15)$$

onde Ψ_p e Ψ_π são, respectivamente, os potenciais de pressão e osmótico e r a resistência ao fluxo (segundos cm⁻¹).

A absorção de água ocorre principalmente pelas raízes mais finas, que se encontram em íntimo contato com um maior volume de solo por unidade de volume de raiz. Nessas raízes finas, a zona de maior absorção de água está situada na porção subapical, entre o meristema e a região de cutinização e suberização; são regiões que podem distar 0,5 cm da ponta das raízes e se estender até 10 cm. Essa zona geralmente corresponde à região de maturação celular, isto é, onde os tecidos vasculares, em particular o xilema, têm iniciado a diferenciação.

A zona de mais rápida e maior absorção de água coincide com a região de maior incidência de pêlos absorventes nas raízes (Fig. 1.11). Os pêlos são extensões microscópicas das células epidérmicas, que aumentam muito a área superficial das raízes em contato íntimo com os filmes de água que circundam as partículas de solo (Fig. 1.12). Isso aumenta muito a capacidade de absorção de água e nutrientes do solo, pois os pêlos absorventes podem constituir mais de 60% da área superficial das regiões apicais das raízes. Com o crescimento, ocorre progressivamente a substituição dos pêlos absorventes que funcionam por apenas alguns dias, de modo que, permanentemente, a zona pilosa das raízes está em contato com novas regiões do solo.

As regiões mais maduras das raízes podem possuir camadas externas de tecidos com paredes celulares contendo materiais

**FIGURA 1.11**

Varição da quantidade de água absorvida nas diferentes regiões das raízes.

hidrofóbicos que dificultam a absorção de água. No entanto, para espécies arbóreas, especialmente durante os períodos de dormência, as regiões mais velhas das raízes podem absorver quantidade significativa de água.

Após a água ter sido absorvida nos pêlos ou células da epiderme das raízes, ela tem que se movimentar radialmente atravessando o córtex para chegar aos elementos do xilema no centro do estelo (Fig. 1.12). Existem três caminhos possíveis para o movimento da água da epiderme até a endoderme das raízes: a via do apoplasto, a da transmembrana e a do simplasto (Fig. 1.12). A via *apoplasto* verifica-se através de um caminho contínuo representado pelas paredes celulares e espaços intercelulares; nela, portanto, a água não atravessa nenhuma membrana.

Tanto na via *transmembrana* quanto através do *simplasto*, a água necessita atravessar membranas. No caso do caminho *transmembrana*, ocorre passagem de água através de várias membranas, entrando numa célula de um lado e saindo do outro para entrar

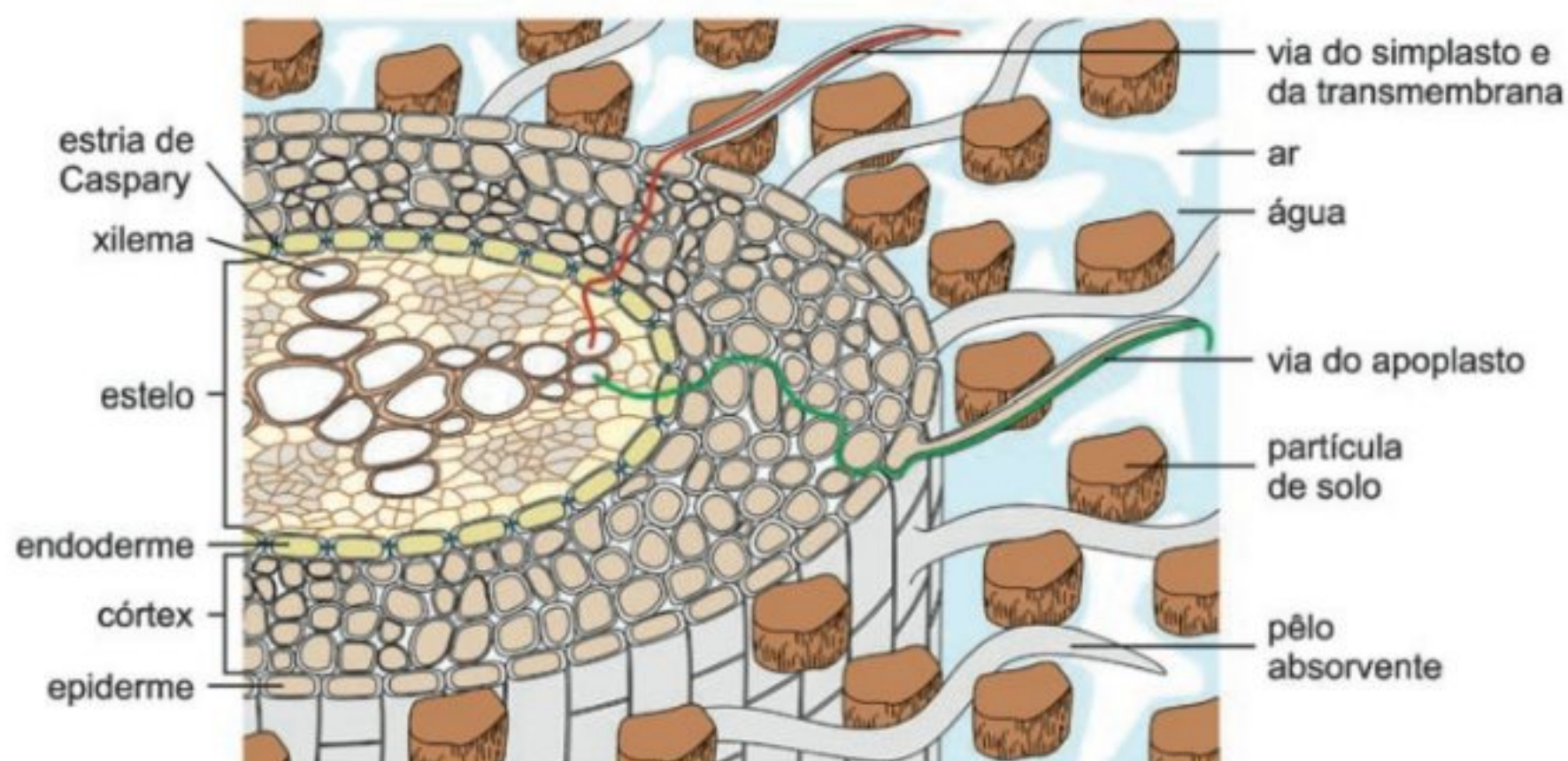
em outra célula. A água atravessa pelo menos duas membranas de cada célula, isso quando o tonoplasto não está envolvido.

O simplasto consiste no espaço ocupado por citoplasmas de células interconectadas por plasmodesmas (microporos), através dos quais a água caminha de uma célula para outra. A importância relativa das vias apoplasto, transmembrana e simplasto ainda não está claramente estabelecida. Esses caminhos não são, necessariamente, mutuamente excludentes, existindo apreciável transferência de água de um para o outro quando esta cruza o córtex da raiz. Na realidade, a água do apoplasto está em constante equilíbrio com a água do simplasto e do vacúolo.

Nas regiões mais jovens próximas à ponta das raízes, a água fluirá diretamente do córtex para dentro do xilema em desenvolvimento, encontrando relativamente pouca resistência ao longo do caminho. Os vasos do xilema são localizados no centro das raízes, numa região conhecida como estelo. Nas regiões mais maduras, circundando o estelo encontra-se uma camada de células conhecida como endoderme (Fig. 1.12).

Na maioria das raízes, a parede das células da endoderme apresenta um espessamento característico, chamado de *estrias de Caspary*. Essas estrias são principalmente compostas de suberina, um mistura complexa de substâncias hidrofóbicas, ácidos graxos de cadeia longa e álcoois, que ocupam os espaços entre as microfibrilas de celulose e os espaços intercelulares. Com isso, na endoderme, as estrias de Caspary apresentam-se como uma barreira física efetiva ao movimento radial de água através do apoplasto. O resultado é que a água se move para dentro e para fora do estelo somente passando através das membranas das células da endoderme, ou seja, a endoderme é que oferece a maior resistência ao movimento de água através da raiz.

Nas raízes com crescimento secundário, geralmente a endoderme é eliminada com o córtex. Naquelas regiões mais velhas que permanecem com crescimento primário, freqüentemente se desenvolvem paredes secundárias espessas. A formação dessas

**FIGURA 1.12**

Seção transversal de uma raiz com diferentes tecidos, que vão desde a epiderme (mais externamente) até o xilema (mais internamente); os pêlos absorventes estão em íntimo contato com filmes de água que circundam as partículas de solo.

paredes pode não ocorrer em algumas células da endoderme opostas aos pólos do xilema, que retêm as estrias de Caspary e não sofrem espessamentos adicionais. Essas células denominam-se *células de passagem* e, nesses casos, são importantes para a passagem de água, bem como de minerais, através da endoderme em direção ao xilema.

Após atravessar a endoderme, já dentro do estelo, a água encontra resistências semelhantes àsquelas do córtex, podendo voltar a se mover nas paredes celulares (apoplasto) e daí chegar ao lume dos elementos de vaso e traqueídeos.

O movimento de água diminui quando as raízes estão sujeitas a baixas temperaturas, níveis elevados de dióxido de carbono, anaerobiose ou tratamento com inibidores da respiração como cianeto ou dinitrofenol. A anaerobiose é mais comumente encontrada em plantas submetidas a solo alagado, podendo levar a um murchamento nas espécies não adaptadas a tal condição. Essas observações indicam uma relação da respiração com o movimento de água nas raízes; no entanto, a exata explicação para esse efeito não está clara. Aparentemente, a respiração estaria relacionada à manutenção da integridade celular e alongamento continuado das raízes; mais recentemente, tem sido sugerida uma ligação da respiração com a inativação das aquaporinas.

Assim como na absorção, seja qual for o caminho do movimento radial, o fluxo de água será dependente do gradiente decrescente de potencial de água entre o xilema e a solução do solo em contato com a superfície das raízes. Esse gradiente aumenta com o estabelecimento de uma pressão negativa (tensão) dentro do xilema, devido à evaporação de água nas folhas (transpiração).

MOVIMENTO ASCENDENTE DE ÁGUA NO XILEMA

O principal tecido condutor de água nas plantas é o xilema, responsável também pela condução de minerais, de algumas pequenas moléculas orgânicas e pela sustentação. Comparado com a complexidade do movimento radial, no xilema o caminho da água é mais simples, apresentando baixa resistência. Juntamente com o floema, o xilema se constitui de um sistema contínuo de tecido vascular que se estende pelo corpo da planta (Fig. 1.13A). As células condutoras no xilema têm anatomia especializada que as capacita a transportar grandes quantidades de água com muita eficiência.

Existem dois tipos básicos de células condutoras no xilema, os *traqueídeos* e os *elementos de vaso*, sendo ambos mortos. Constituem-se de células alongadas com paredes secundárias nas quais ocorrem as *pontoações* (Fig. 1.13B). As *pontoações* dos traqueídeos pontiagudos concentram-se nas extremidades, conectando-os com o traqueídeo vizinho. Os elementos de vaso, além das *pontoações*, apresentam *perfurações* que são áreas destituídas de paredes primária e secundária. As *perfurações* podem ocorrer lateralmente, mas geralmente ocorrem nas paredes terminais (*placa de perfuração*), de modo que os elementos de vaso são unidos por *placas de perfuração* constituindo colunas contínuas e longas, chamadas de *vasos*.

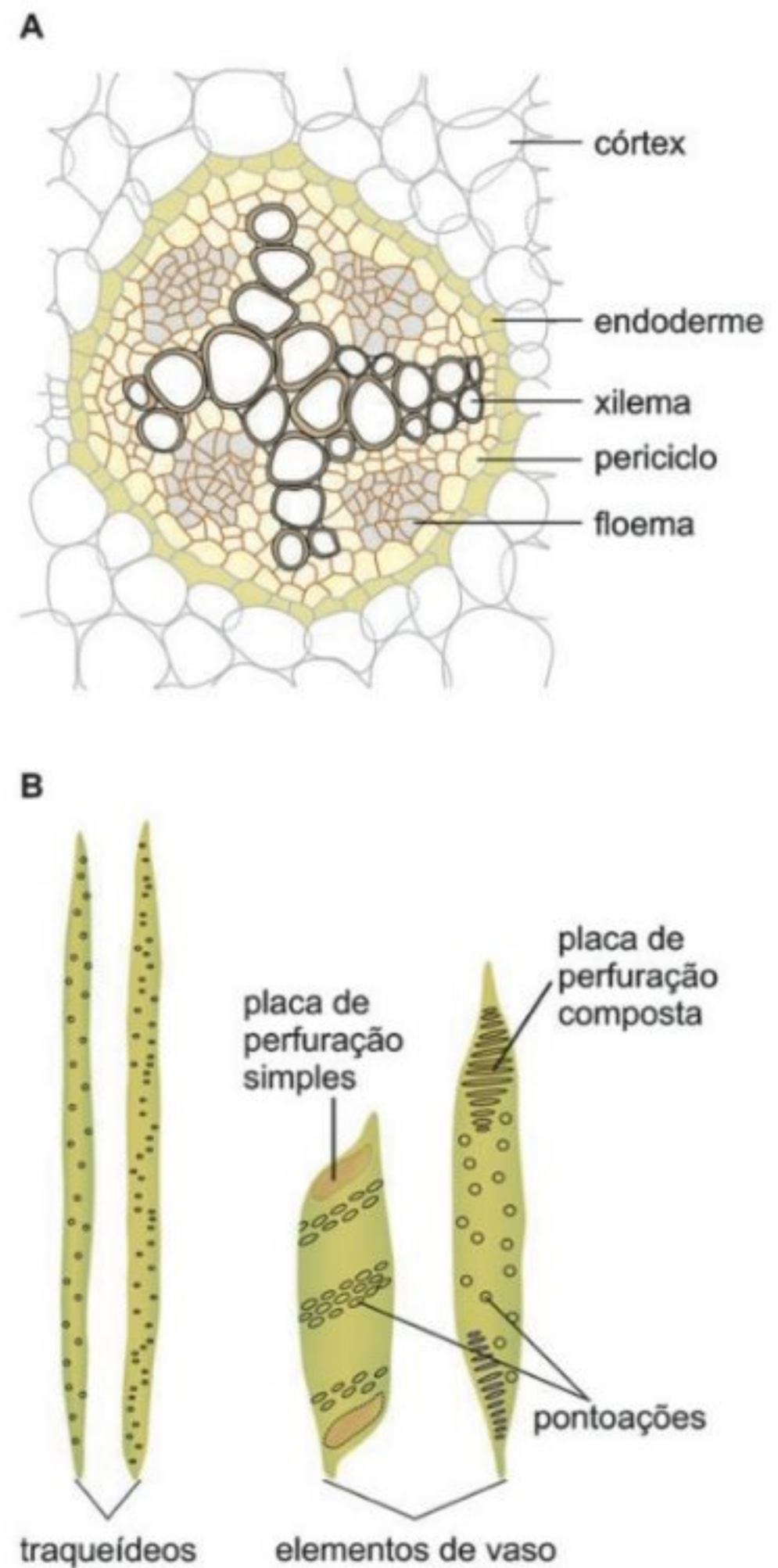


FIGURA 1.13

A. Representação do tecido vascular de raízes jovens mostrando os grandes vasos do xilema numa seção transversal. **B.** Comparação estrutural de traqueídeos e elementos de vaso envolvidos no transporte de água pelo xilema.

O traqueídeo, considerado evolutivamente mais primitivo que o elemento de vaso, é o único tipo de célula condutora de água nas gimnospermas. O xilema da grande maioria das angiospermas é constituído predominantemente por elementos de vaso. Acredita-se que os elementos de vaso são condutores de água mais eficientes do que os traqueídeos; no entanto, as bolhas de ar que podem ser formadas no interior dos vasos causam, em geral, maior obstrução ao fluxo de água nos primeiros do que nos últimos.

Diferentemente do movimento radial na raiz, a resistência ao fluxo de água no xilema é relativamente menor, dada a ausência de membranas e citoplasma. Além disso, as placas de perfuração dos elementos de vaso permitem que a água se mova livremente. O movimento de água no xilema é um fluxo em massa gerado

por um gradiente de potencial de pressão ($\Delta\Psi_p$) entre as extremidades do sistema condutor.

Quando soluções marcadas com corantes, solutos radioativos ou água contendo ^3H ou ^{18}O são administrados à planta, os pulsos radioativos são rapidamente detectados nos vasos e traqueídeos, de modo a possibilitar o acompanhamento do movimento da seiva. A velocidade do movimento pode variar de 1 m h^{-1} ($0,3\text{ mm s}^{-1}$) até, em casos extremos, 45 m h^{-1} (13 mm s^{-1}). Tem sido estimado que, para o movimento de água em um vaso do xilema de $80\text{ }\mu\text{m}$ de diâmetro a uma velocidade de 4 mm s^{-1} , seja necessário um $\Delta\Psi_p = 0,02\text{ MPa m}^{-1}$. Esse valor é extremamente inferior ao gradiente de potencial de água ($\Delta\Psi_w$) exigido para a água se movimentar radialmente nas raízes, que é estimado em $2 \times 10^8\text{ MPa m}^{-1}$.

Considera-se que o $\Delta\Psi_p = 0,02\text{ MPa m}^{-1}$ é necessário para vencer as resistências do movimento de água inerentes à estrutura dos tecidos condutores, como superfícies irregulares nas paredes, perfurações etc. No entanto, somada a essas resistências existe a força da gravidade, que é de $0,01\text{ MPa m}^{-1}$. Sendo assim, se forem consideradas árvores de grande porte como a sequóia (*Sequoia sempervirens*), cujo movimento de água das raízes até as folhas pode envolver distâncias de cerca de 100 m , estima-se a necessidade de um $\Delta\Psi_p = 3\text{ MPa}$ ($0,02 + 0,01 = 0,03\text{ MPa m}^{-1} \times 100\text{ m} = 3\text{ MPa}$), ou seja, $29,6$ atmosferas para vencer o somatório de todas as resistências.

Dentro desse contexto, o que sempre interessou muito aos fisiologistas de plantas foi entender como o $\Delta\Psi_p$ é gerado. Claramente, sabe-se que diferentes forças podem provocar movimento de água no xilema, como a *pressão positiva da raiz* e a *capilaridade*. Entretanto, a teoria considerada mais completa para explicar os movimentos a maiores distâncias é a *teoria da coesão e tensão*, que combina a transpiração com a alta força de coesão entre as moléculas de água para explicar a formação do $\Delta\Psi_p$.

Pressão positiva da raiz

Como já mencionado, a força motriz que dirige o movimento da água através da raiz é representada pela diferença de potencial de água entre a solução do solo na superfície da raiz e a seiva do xilema. O potencial osmótico (Ψ_π) contribui relativamente pouco para o potencial de água no xilema em plantas que transpiram rapidamente, mas é importante a baixas velocidades de transpiração, levando ao desenvolvimento de um fenômeno conhecido como *pressão positiva da raiz*. O Ψ_π , nessa situação, decresce aos seus níveis mais baixos em plantas desfolhadas em que a transpiração é zero.

A pressão positiva da raiz é facilmente visualizada quando o caule de uma planta herbácea é cortado acima da linha do solo; nessa condição, a seiva do xilema exsuda na superfície cortada por várias horas. Essa pressão pode ser medida a partir do acoplamento de um manômetro à extremidade cortada (Fig. 1.14). A pressão da raiz pode ser interpretada como uma pressão hidrostática no xilema, entretanto, ela leva esse nome porque a força que causa o movimento da seiva que exsuda origina-se na raiz.

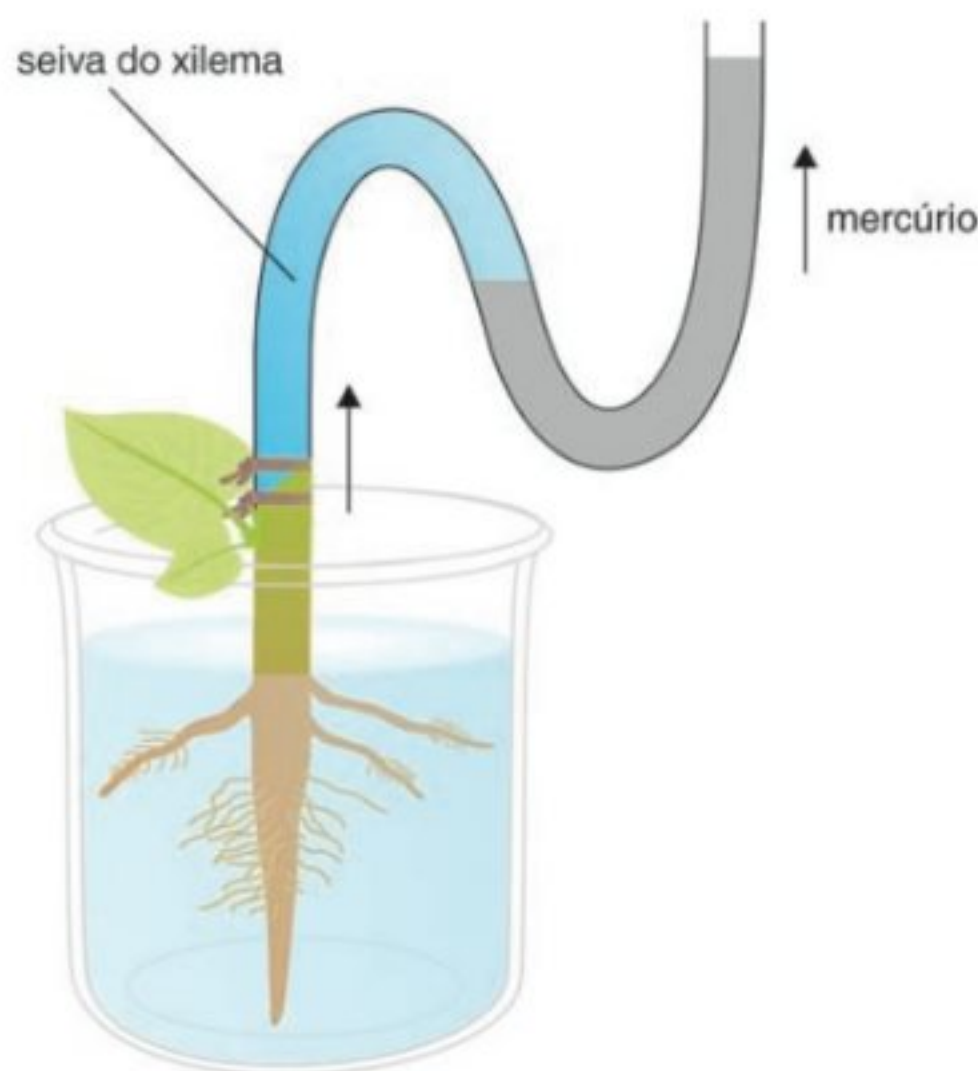


FIGURA 1.14

Representação de um tipo de manômetro, dispositivo utilizado para medir a pressão positiva na raiz. A pressão pode ser obtida através da medição do deslocamento que a absorção de água pelas raízes causa na coluna de mercúrio.

Como se desenvolve a pressão positiva da raiz? Da solução diluída do solo, as raízes absorvem íons, que são transportados para o estelo e depositados ativamente no xilema. O acúmulo de íons diminui o potencial osmótico e, conseqüentemente, o potencial de água (Ψ_w) da seiva do xilema. Essa redução do Ψ_w gera um movimento de água passando das células corticais para o estelo atravessando as membranas das células da endoderme (ver abordagem anterior sobre absorção e movimento radial de água nas raízes), gerando então uma pressão hidrostática positiva no xilema. Nesse caso, as raízes podem ser comparadas a um simples osmômetro em que a endoderme constitui a membrana semipermeável, os íons acumulados no xilema representam o soluto dissolvido e os vasos do xilema representam o tubo vertical (ver Fig. 1.6).

A pressão positiva da raiz é maior em plantas bem hidratadas, sob condições de alta umidade relativa do ar, acarretando, nessa situação, pouca transpiração, e de solos com boas condições de umidade. Em plantas com alta taxa transpiratória, a absorção, o transporte e a perda de água para a atmosfera são tão rápidos, que a pressão positiva no xilema nunca se desenvolve. Nesses casos, ocorre na realidade o estabelecimento de uma pressão negativa. Devido às variações das condições ambientais, a pressão positiva da raiz varia continuamente durante o dia e entre as estações do ano. Existem também grandes diferenças entre espécies, variando de $0,05$ a $0,5\text{ MPa}$.

Considerando que a pressão positiva da raiz não é um fenômeno observado em todas as espécies, que no xilema de plantas sob elevada taxa transpiratória ocorre tensão (pressão negativa) e que a pressão medida é muito menor do que aquela necessária

para vencer o somatório das resistências para chegar no topo de uma árvore de 100 m, por exemplo (3 MPa), fica claro que esse fenômeno não é o responsável pela ascensão da seiva em todos os casos.

A mais óbvia evidência da existência de uma pressão positiva nas raízes é a ocorrência de um fenômeno conhecido como *gutação* (Fig. 1.15), que é a eliminação de líquido pelas folhas através dos *hidatódios*. Os hidatódios são poros semelhantes aos estômatos, localizados sobre espaços intercelulares da epiderme das folhas. Abaixo desses poros, existe um tecido frouxo adjacente e em contato direto com as terminações do xilema, chamado *epitema*. A gutação é mais perceptível quando a transpiração é suprimida e a umidade relativa do ar e do solo é alta, o que geralmente ocorre durante a noite. É um fenômeno muito freqüente em plantas de florestas pluviais tropicais, como a floresta amazônica. No entanto, exemplos corriqueiros são as gotas de água sobre a lâmina foliar de gramíneas e ao longo da margem de algumas folhas de plantas herbáceas pela manhã.



FIGURA 1.15

Folhas de *Cissus verticillata* apresentando gutação pela manhã. Observe secreção de gotículas de água pelos hidatódios, que estão localizados nas margens dos limbos das folhas. (Foto: V. F. Kinupp.)

Capilaridade

Se um tubo capilar de vidro aberto nas extremidades for inserido verticalmente num volume de água, o líquido subirá pelo tubo acima da superfície da água. Esse fenômeno é chamado de capilaridade e ocorre devido à interação de forças como *adesão*, *coesão* e *tensão superficial* da água, com a *força da gravidade* agindo sobre a coluna de água. A força de adesão é gerada pela atração entre as moléculas de água (dipolo) e a superfície interna do tubo; quer seja o tubo de vidro ou elementos traqueais do xilema. À medida que ocorre o fluxo de água ao longo da parede do tubo, as forças de coesão entre as moléculas de água agem “puxando” o volume de água que se encontra no interior do tubo. Essa subida da água continua até essas forças serem balanceadas pela força da gravidade.

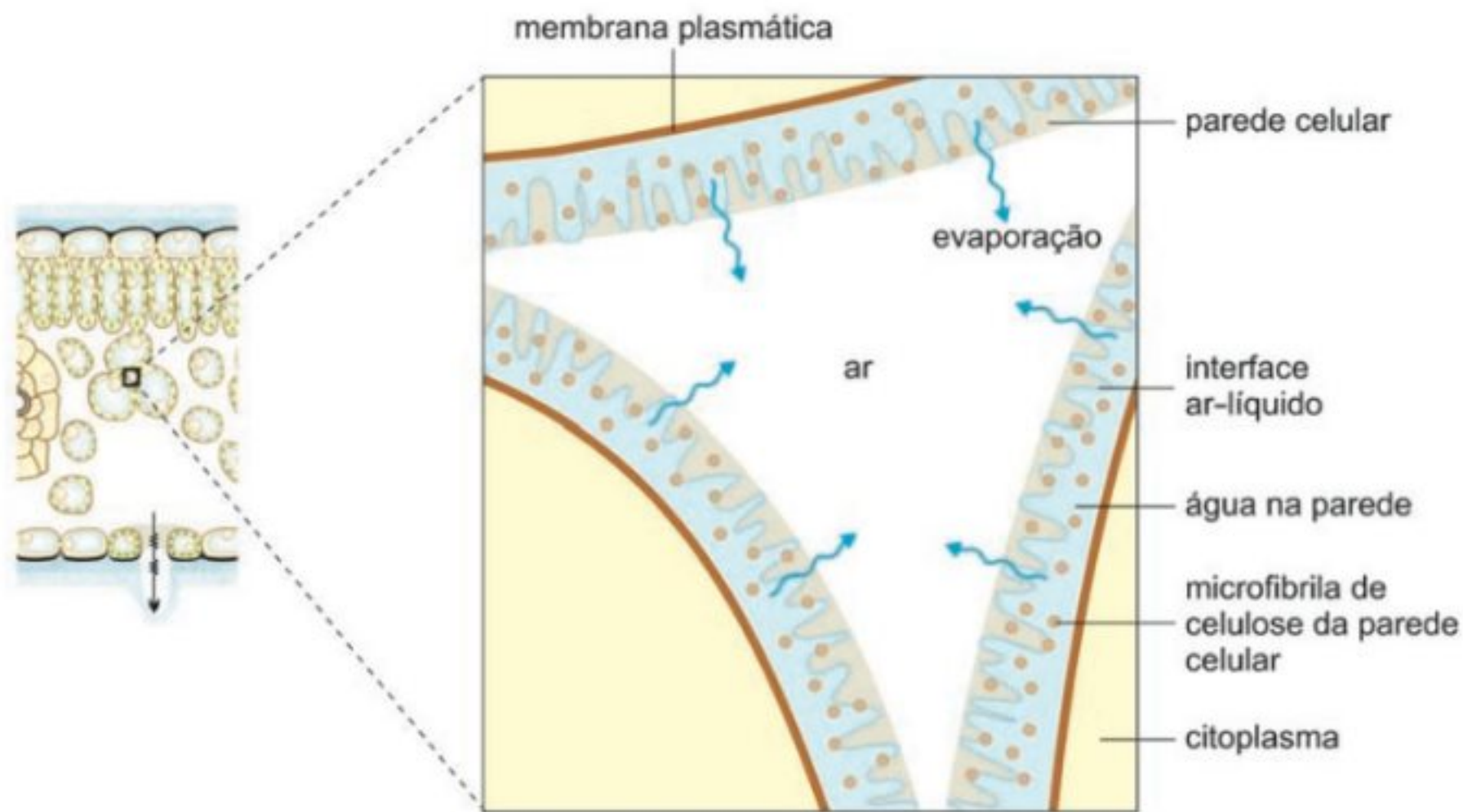
Quanto mais estreito for o tubo, mais alto a água subirá, devido às forças atrativas da superfície, que são maiores em relação à da gravidade, ou seja, a subida da água em um tubo capilar é inversamente proporcional ao raio do tubo. Em elementos traqueais de 50 μm de diâmetro, a água sobe a uma altura de cerca de 0,6 m; já em elementos de vaso com diâmetro de 400 μm , subirá apenas 0,08 m. Com base nesses números, o movimento ascendente da água por capilaridade no xilema pode ser considerado importante somente para plantas vasculares de pequeno porte. Logo, a capilaridade é insuficiente para explicar o mecanismo geral de ascensão da seiva no xilema.

Teoria da coesão e tensão

Nas plantas vasculares, a água chega até as folhas através do xilema, que apresenta muitas ramificações, formando uma intrincada rede de vasos no limbo foliar. Devido à transpiração que as plantas geralmente apresentam, é muito importante que a água perdida seja rapidamente repostada. Para explicar a ascensão da seiva no xilema, a teoria mais amplamente aceita é a da coesão e tensão, que teve seu primeiro detalhamento descrito por H. H. Dixon, em 1914.

A reposição da água nas folhas deve-se a uma diminuição no potencial de água causada pela evaporação nesses órgãos, que provocará o carreamento de água dos terminais do xilema. Do xilema, a água é “puxada” junto às paredes celulares para dentro das células da folha. Como resultado da remoção de água do xilema, a seiva fica sob tensão (pressão negativa), que é transmitida para as regiões inferiores da planta até as raízes, através das colunas contínuas de água existentes nos traqueídeos ou nos elementos de vaso. Nas raízes, o menor potencial de água (mais negativo) da seiva do xilema fará com que a água se mova em direção aos elementos condutores vinda da solução do solo atravessando o córtex e a endoderme. A teoria da coesão e tensão fundamenta-se na existência de uma coluna contínua de água indo da ponta das raízes, passando pelo caule, até as células do mesófilo das folhas.

É na superfície das paredes celulares das folhas que se desenvolve a pressão negativa que causa o movimento ascendente da seiva no xilema. A água nos espaços intercelulares do meso-

**FIGURA 1.16**

Retração da interface ar-líquido nos interstícios da parede celular originando tensões ou pressões negativas nas folhas. A evaporação ocorre na interface ar-água do filme de água que cobre a parede celular das células do mesofilo. Com o aumento da evaporação, desenvolvem-se meniscos de raios microscópicos cada vez menores. A tensão superficial causa pressão negativa na fase líquida.

filo está sujeita às mesmas forças de tensão superficial encontradas nos poros capilares do solo (ver item *Água no solo*). A água envolve a superfície das células do mesofilo como uma fina película, aderida às microfibrilas de celulose e outras superfícies hidrofílicas. As células do mesofilo estão em contato direto com a atmosfera através de um extenso sistema de espaços intercelulares. Inicialmente ocorre a evaporação da água do delgado filme que reveste esses espaços. Como a água é perdida para a atmosfera, a interface ar-líquido retrai-se nos interstícios da parede celular (Fig. 1.16). Isso cria meniscos microscópicos curvos na superfície ar-água.

À medida que aumenta a evaporação da água da parede, a interface ar-água desenvolve meniscos de raios cada vez menores, e a tensão superficial nessa interface gera progressivamente uma pressão cada vez mais negativa (ver equação 1.14), a qual tende a deslocar mais líquido em direção a essa superfície. Em razão de a coluna de água ser contínua, esse potencial de pressão negativo, ou tensão, é transmitido através de toda a coluna até o solo adjacente à raiz. Como resultado, a água é literalmente “arrastada” através da planta, das raízes até a superfície das células do mesofilo nas folhas. Assim, a força motriz que dirige o transporte no xilema é gerada na interface ar-água dentro das folhas.

Evidências indiretas têm corroborado a teoria da coesão e tensão, por indicarem que a água no xilema de plantas transpirando apresenta significativa tensão. Por exemplo, com o rompimento da coluna contínua (cavitação), a água recua rapidamente, produzindo vibrações que podem ser ouvidas a partir de ampliações ultra-sônicas. Além disso, se o rompimento da coluna for feito a partir do corte do caule abaixo de uma superfície com solução colorida, facilmente é visualizada a rápida absorção da solução para dentro dos elementos traqueais. A coloração artificial de flores baseia-se exatamente nesse princípio.

Outras evidências envolvem medidas da espessura do caule e avaliação direta da tensão nos vasos do xilema. Por intermédio de medidas sensíveis com dendrógrafos, usados para medir pequenas mudanças no diâmetro de caules, tem sido observado decréscimo na espessura dos caules durante períodos de transpiração ativa e retorno quando a transpiração declina. Além disso, foi possível fazer medidas diretas da tensão nos vasos do xilema com a bomba de pressão, técnica desenvolvida por P. F. Scholander (Scholander *et al.*, 1965). Cortando-se uma folha ou um ramo da planta durante a transpiração, as colunas de água recuam abruptamente para o interior do tecido, abaixo da superfície cortada, devido à tensão. A coluna de água pode ser forçada para o caminho contrário até a superfície cortada, por um aumento de pressão induzido numa câmara onde a parte da planta está inserida (Fig. 1.17). A magnitude da pressão necessária para o retorno da água à superfície cortada é aproximadamente igual à tensão que existia no xilema. Com esse dispositivo, têm-se medido tensões no xilema da ordem de $-0,5$ a $-2,5$ MPa em plantas sob alta taxa transpiratória.

Finalmente, também é importante como evidência o fato de o potencial de água (Ψ_w) na base de uma planta ser menos negativo do que o Ψ_w no topo, principalmente devido a diferenças do componente potencial de pressão. As evidências indicam claramente que a coluna de água do xilema é literalmente “puxada” para a parte superior de uma planta vascular em resposta à transpiração.

A teoria é chamada de *coesão e tensão* porque requer que as propriedades coesivas da água sejam capazes de suportar tensão da coluna de água do xilema, ou seja, é muito importante que a coluna contínua de água seja mantida. É necessário lembrar, também, que a adesão das moléculas de água às paredes dos traqueídeos e vasos do xilema e às paredes das células das folhas

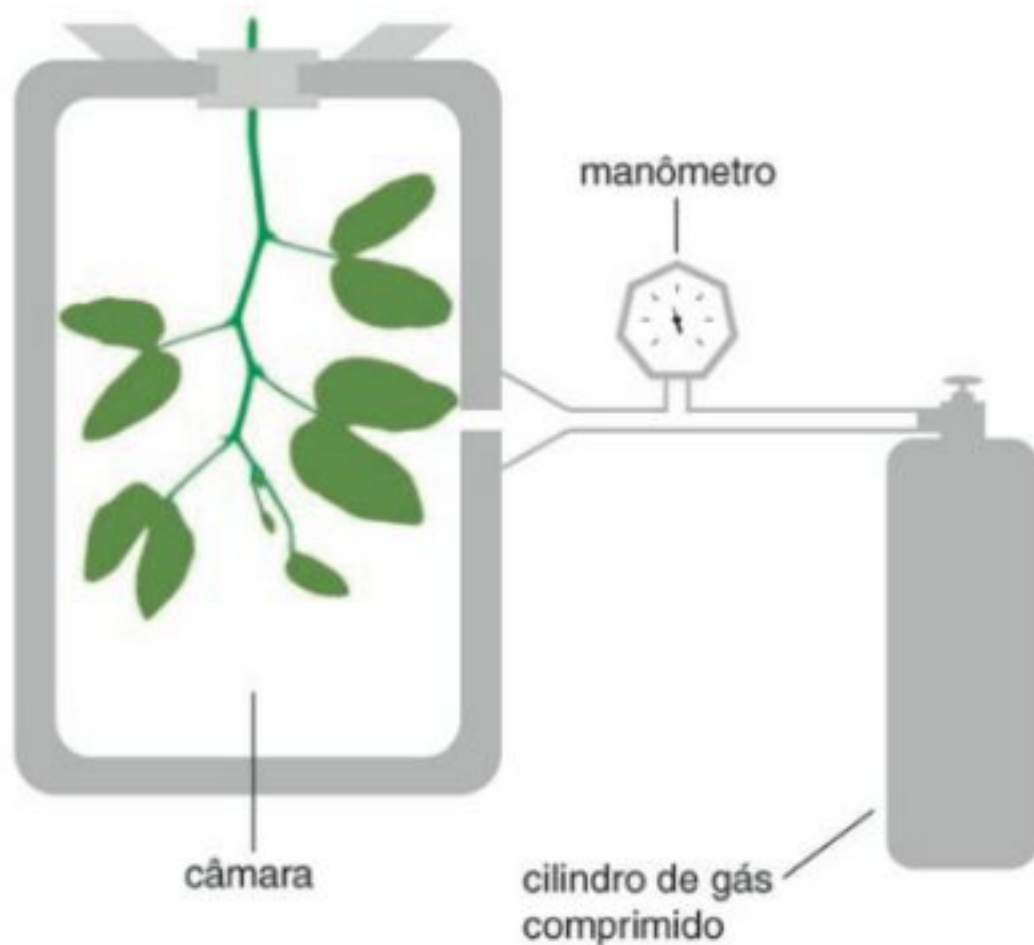


FIGURA 1.17

Diagrama de uma bomba de pressão usada para medir a tensão ou pressão negativa da água no xilema. Cortando-se um ramo de uma planta que esteja transpirando, a coluna líquida no interior do xilema recua para o interior do vaso, devido à tensão a que ela estava submetida. A pressão necessária para que a seiva possa emergir na extremidade cortada do ramo é equivalente à tensão que existia na água presente no xilema. A quantificação dessa pressão pode ser feita a partir da medição da pressão injetada na câmara da bomba.

e raízes é tão importante para a ascensão da seiva quanto a tensão e a coesão.

A manutenção da integridade da coluna de água ou a resistência à ruptura devem-se à força tênsil da água, que é alta devido às forças coesivas entre as moléculas de água. Essa força tênsil depende do diâmetro e das características da parede do conduto, no caso o xilema, e também dos gases e solutos dissolvidos. A força tênsil é uma medida da tensão máxima que determinado material pode suportar sem se quebrar, tipicamente uma propriedade de sólidos.

Tem sido demonstrado que geralmente a água pura, livre de gases dissolvidos, é capaz de resistir a uma tensão da ordem de -25 a -30 MPa a 20°C . Isso é aproximadamente 10% da força tênsil do cobre e 10 vezes maior que a pressão (subatmosférica) negativa ou tensão de -3 MPa ($\Delta\Psi_p = 3$ MPa, definido anteriormente) requerida para deslocar uma coluna de água até o topo de uma árvore de 100 m, sem que seja interrompida. Desse modo, considera-se que a força tênsil da água é suficiente para evitar a separação das moléculas sob tensão, necessária para ascensão da água no xilema de grandes árvores.

Apesar do exposto no parágrafo anterior, a grande tensão que se desenvolve no xilema das árvores e em outras plantas pode criar problemas. Com o aumento da tensão da água existe tendência de ar ser puxado através dos microporos das paredes celulares do xilema. Além disso, a água no xilema contém diversos gases dissolvidos, como dióxido de carbono, oxigênio e nitrogênio, e, quando a coluna de água está sob tensão, os gases ficam propensos a se separar da solução. Como consequência, ocorre inicialmente

a formação de bolhas microscópicas na interface água–parede dos elementos traqueais. Essas pequenas bolhas podem coalescer e expandir-se rapidamente ocupando todo o conduto do xilema. O processo de rápida formação de bolhas no xilema é chamado *cavitação*, resultando na formação de bolhas de ar que provocam obstrução do conduto, chamada de *embolia*. A embolia no xilema quebra a continuidade da coluna de água, interrompendo o transporte de água. O rompimento nas colunas de água do xilema não é muito freqüente; entretanto, quando ocorre, se não for reparado, pode ser prejudicial às plantas.

A expansão da cavitação no xilema pode ser impedida porque os gases não atravessam facilmente os pequenos poros das pontoações dos elementos de vaso e traqueídeos, um efeito também causado pela alta tensão superficial da água. Considerando que os capilares do xilema são interconectados, a bolha de ar não pára completamente o fluxo de água, uma vez que esta pode desviar do ponto bloqueado para o conduto vizinho (Fig. 1.18). Desse modo, as pontoações nas paredes do xilema auxiliam no isolamento da bolha de ar num único traqueídeo ou elemento de vaso, restringindo a cavitação. Além disso, muitas plantas têm crescimento secundário em que novo xilema é formado a cada ano.

TRANSPIRAÇÃO

A perda de água pelas plantas na forma de vapor é conhecida como *transpiração*. Esse processo pode ser considerado dominante na relação água–planta. A evaporação da água produz o gradiente de Ψ_w , que é a causa principal do movimento da água através do xilema, controlando a taxa de absorção e ascensão da seiva.

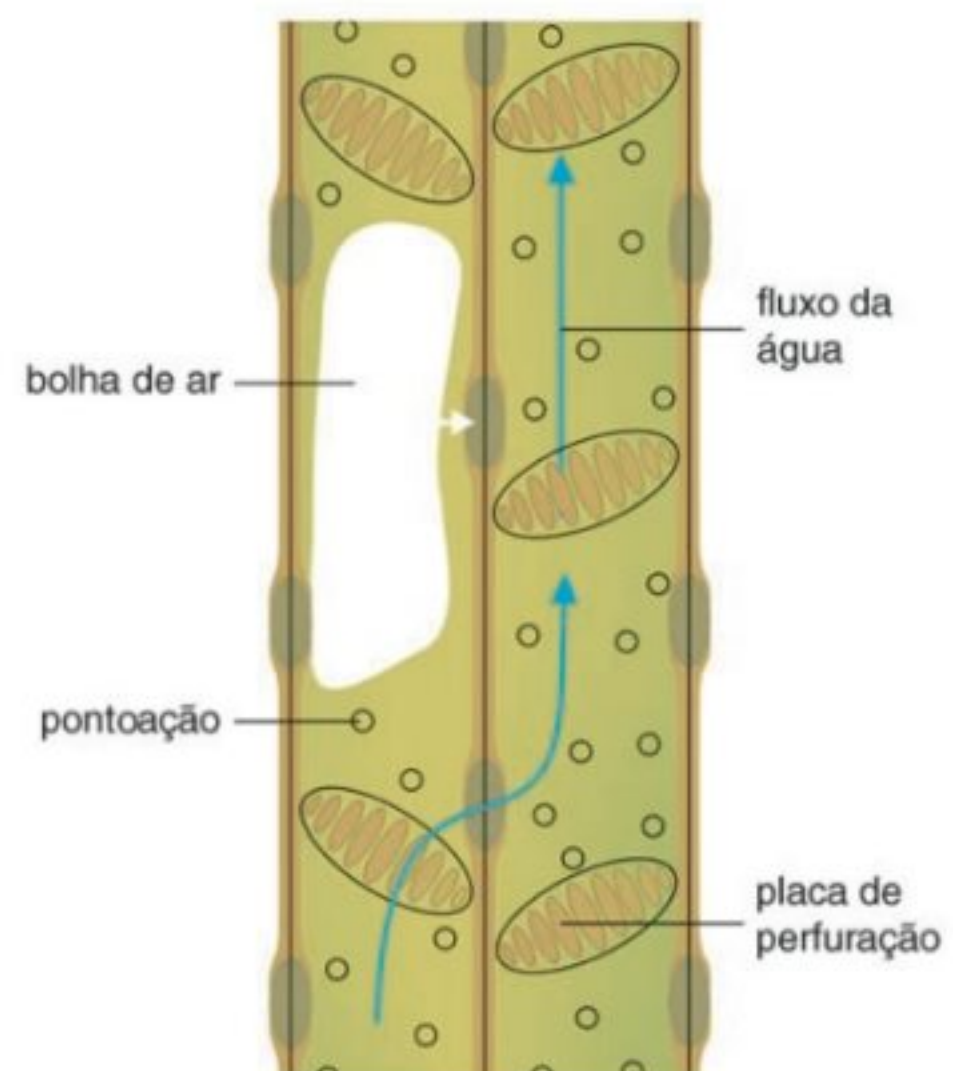


FIGURA 1.18

Formação de grandes bolhas de ar no interior do xilema, chamada embolia, como resultado da cavitação. Desvio do fluxo de água para vasos adjacentes em função da embolia.

Cerca de 95% de toda água absorvida pelas plantas é perdida pela transpiração, sendo o restante (ou menos) usado no metabolismo e crescimento. As plantas de maior interesse do ponto de vista de produção agrícola são as que apresentam maiores taxas de transpiração. Frequentemente, muitas centenas de litros de água são requeridas para produzir cada quilograma de massa seca; transpiração excessiva pode levar a significativa redução na produtividade. Um ponto de discussão ainda é se a transpiração apresenta alguma vantagem às plantas, uma vez que a perda intensa de água tem profundas implicações para o crescimento. Sem a transpiração, uma única chuva ou irrigação poderia prover água suficiente para o crescimento de algumas espécies de plantas, considerando que a cobertura vegetal tenha impedido a evaporação do solo.

A transpiração pode ocorrer em qualquer parte do organismo vegetal acima do solo; no entanto, apesar de uma pequena quantidade de água ser perdida através de pequenas aberturas da casca de caules e ramos jovens (lenticelas), a maior proporção ocorre nas folhas (mais de 90%). Isso torna a transpiração intimamente ligada à anatomia da folha (Fig. 1.19). A multicamada de ceras conhecida como cutícula, que cobre a epiderme das folhas, funciona como uma barreira bastante efetiva à saída de

água, tanto líquida quanto na forma de vapor, protegendo as células de uma eventual dessecação letal. Essa proteção é variável entre as espécies dependendo da espessura da cutícula (Fig. 1.20B). No entanto, a continuidade da epiderme imposta pela cutícula é interrompida por pequenos poros que fazem parte do complexo estomático. Cada poro é circundado por duas células especializadas, as *células-guardas*, que funcionam como válvulas, operadas pela turgescência, que controlam o tamanho da abertura do poro (Fig. 1.20).

O interior da folha é composto por células do mesofilo fotossintético apresentando um sistema interconectado de espaços intercelulares, que pode atingir até 70% do volume das folhas em alguns casos ocupados por superfícies úmidas, de onde a água evapora, e por ar. Geralmente, os estômatos são mais abundantes na superfície inferior das folhas. Eles são localizados de forma que, quando abertos, a rota para as trocas gasosas (principalmente dióxido de carbono, oxigênio e vapor d'água) entre os espaços internos das folhas e a atmosfera circundante seja facilitada. Por causa dessa relação, esse espaço é referido como *espaço subestomático*.

Na transpiração estão envolvidas a evaporação de água das paredes úmidas das células para o ar circundante dos meatos e a

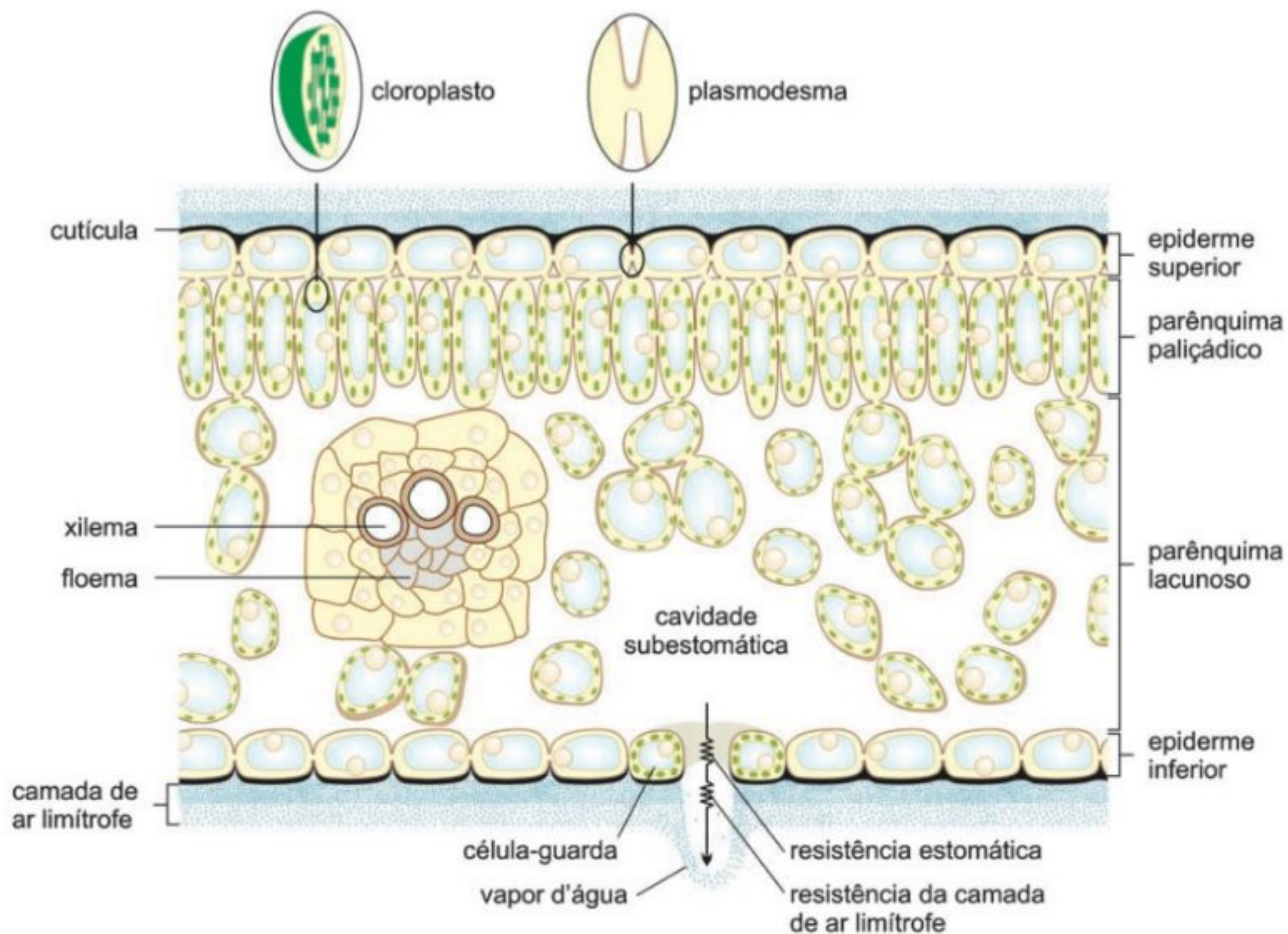


FIGURA 1.19

Representação diagramática da lâmina foliar em seção transversal. Notar especialmente a presença de cutícula cobrindo as superfícies externas, as resistências à saída da água (resistência estomática e da camada de ar limítrofe), o extenso espaço intercelular com acesso ao ar do ambiente através dos estômatos. Notar também as conexões plasmodesmáticas entre as células da epiderme e as células dos parênquimas (que são aquelas dispostas entre a epiderme superior e a inferior) e a ausência de cloroplastos nas células da epiderme.

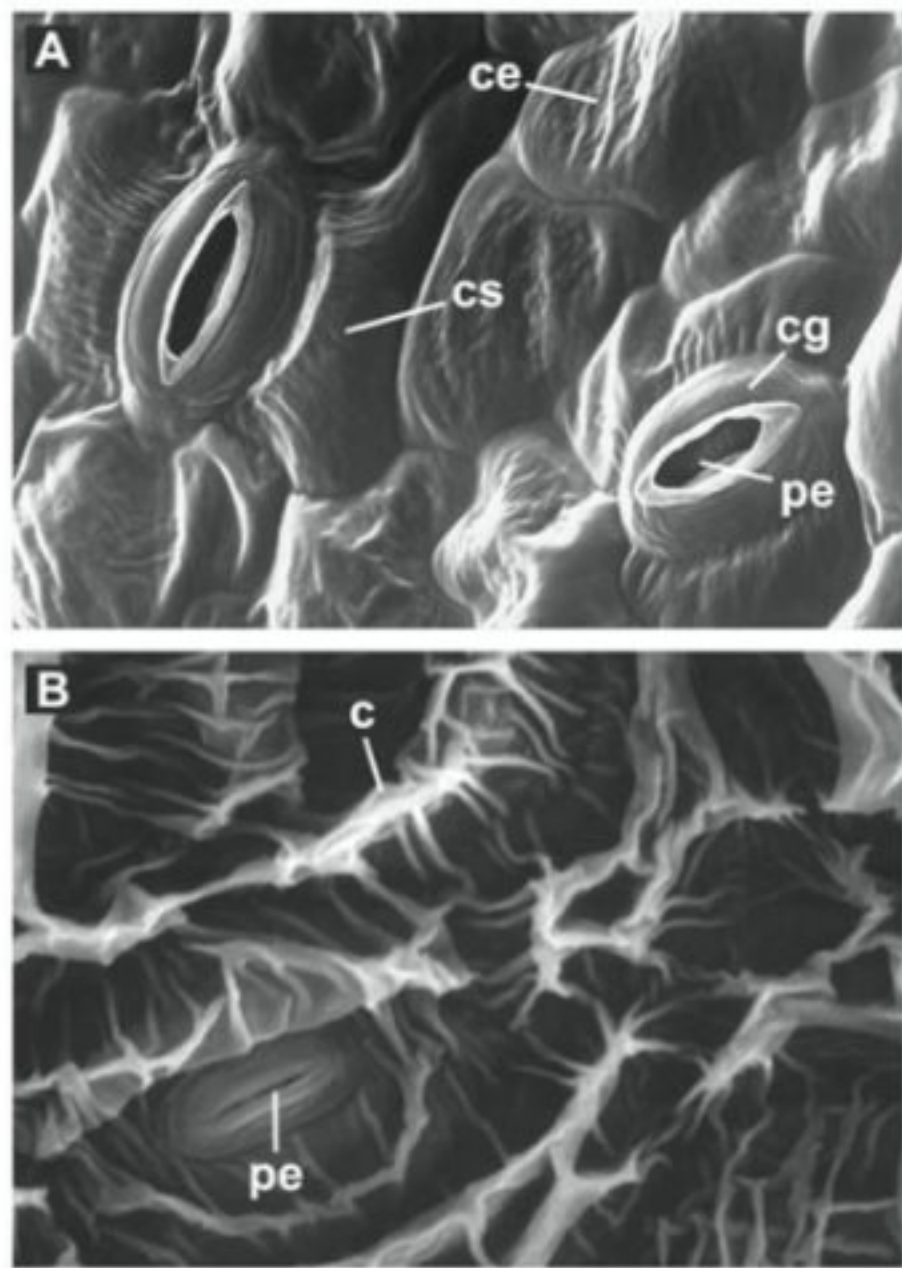


FIGURA 1.20

Vista frontal da epiderme da face inferior de folhas de *Heliconia americana* (A) e *Hevea brasiliensis* (B). ce — célula da epiderme, c — cutícula, cs — célula subsidiária, cg — célula-guarda, pe — poro estomático. (Fotos: C. M. Pisicchio e M. E. Medri.)

passagem dos espaços subestomáticos para a atmosfera externa da folha. Acredita-se que grande parte da água evapore da superfície interna das células do mesofilo que rodeiam os espaços de ar subestomáticos.

O caminho pelo qual o vapor de água escapa após a evaporação (espaço subestomático) é relativamente simples. Ele se difunde através dos espaços intercelulares e para fora, através dos estômatos. Essa difusão é conhecida como *transpiração estomática*, responsável por 90 a 95% da água perdida pelas folhas, ou seja, existe uma alta correlação entre a condutância estomática e a transpiração. Para *Dalbergia miscolobium* foi observado um coeficiente de correlação de 0,91 entre esses dois parâmetros (Sasaki *et al.*, 1997). A difusão de vapor de água pode ocorrer também através das células da epiderme e cutícula (*transpiração cuticular*), um caminho com resistência alta e variável entre as espécies, dependendo da espessura da cutícula. É necessário destacar a importância da difusão como processo que controla a transpiração, visto que o movimento é dirigido pelo gradiente de concentração de vapor de água ou gradiente de pressão de vapor entre as superfícies onde a água está evaporando e a atmosfera.

Força que dirige a transpiração

A difusão é muito mais rápida em um gás do que em um líquido, o que torna esse processo adequado para mover vapor de água através da fase gasosa da folha. Embora tenha sido estabelecido

que o movimento de água no sistema solo-planta-atmosfera é determinado por um gradiente de potencial de água, para a transpiração, onde ocorre difusão na forma de vapor, é melhor pensar em *gradiente de concentração de vapor de água* ($\Delta\Psi_{va}$) ou *gradiente de pressão de vapor* (Δe), que são equivalentes. A pressão de vapor da água (e) é medida em quilopascal (KPa) e é proporcional à concentração de vapor de água (C_{va}) que pode ser expressa em mol m^{-3} .

A pressão de vapor da água é a pressão exercida pelas moléculas de água na forma de vapor contra a superfície do fluido que está evaporando e sobre a parede da câmara onde a evaporação está ocorrendo. O vapor de água vai difundir de uma região de maior pressão de vapor ou de maior concentração para outra de menor, de acordo com a lei de Fick.

A transpiração nas folhas vai depender do gradiente de pressão de vapor ou de concentração de vapor de água entre os espaços de ar da folha e o ar externo. Além disso, vai depender também das resistências (r) à difusão durante o percurso. Esse conceito de transpiração é análogo ao fluxo de elétrons em um circuito elétrico, ou seja, análogo a lei de Ohm, em que as resistências estão associadas com cada parte do caminho (Fig. 1.19).

Enquanto, na evaporação, o escape do vapor de água é controlado simplesmente por uma resistência chamada de *resistência da camada de ar adjacente* ou *camada de ar limítrofe* à superfície evaporante (r_a), no caso da transpiração somam-se a esta as *resistências da própria folha* (r_f). Entre as r_f , a principal é a *resistência dos poros estomáticos* (r_s), que é variável uma vez que o estômato pode estar totalmente aberto, parcialmente aberto ou fechado. Sendo assim, transpiração (T) expressa em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pode ser relacionada com as resistências (r) expressas em s m^{-1} pela seguinte equação, considerando nesse caso o ΔC_{va} expresso em mol m^{-3} :

$$T = \frac{C_{va(\text{folha})} - C_{va(\text{ar})}}{r_f + r_a} \quad (1.16)$$

onde $C_{va(\text{folha})}$ é a concentração de vapor de água dentro da folha e $C_{va(\text{ar})}$ é a concentração de vapor de água no ar fora da folha.

Em princípio, supõe-se que, na transpiração, o espaço de ar subestomático da folha é normalmente saturado ou muito próximo da saturação de vapor de água. Isso porque as células do mesofilo que circundam os espaços de ar apresentam uma grande área de superfície de exposição para a evaporação da água. Por outro lado, a atmosfera que circunda a folha dificilmente está saturada de água; ao contrário, freqüentemente tem um conteúdo de água muito baixo. Logo, essa diferença na concentração de vapor de água entre os espaços de ar internos da folha e o ar que a circunda é a força que dirige a transpiração.

Tanto a pressão de vapor de água quanto a concentração de vapor são fortemente dependentes da *umidade relativa* (UR) e da *temperatura*. A umidade relativa pode ser definida como a concentração de vapor de água (C_{va}) expressa como uma fração da concentração máxima de vapor de água (saturação, $C_{va(\text{sat})}$):

$$UR = \frac{C_{va}}{C_{va(\text{sat})}} \quad (1.17)$$

$$\text{ou, } Cva = UR \times Cva_{(sat)} \quad (1.18)$$

o mesmo é válido para a pressão de vapor. A umidade relativa que comumente é expressa em porcentagem, quando atinge 50%, por definição tem a metade da concentração de vapor de água que teria se estivesse saturada de vapor.

A umidade relativa pode ser definida também como a razão entre a quantidade máxima de vapor de água que pode ser retido pelo ar a uma dada temperatura. Segundo essa definição, a umidade relativa é influenciada pela temperatura, e, em consequência, a pressão de vapor e a concentração de vapor da água também. Isso porque a capacidade de retenção de água aumenta bastante com a temperatura, por exemplo, a 10°C a concentração de vapor de água em ar saturado ($Cva_{(sat)}$) é 0,522 mol m⁻¹, a 20°C é 0,961 mol m⁻¹ e a 30°C é 1,28 mol m⁻¹. A umidade e a temperatura podem, então, modificar a magnitude do gradiente de concentração de vapor de água entre a folha e a atmosfera, influenciando a taxa de transpiração.

Além da umidade relativa e da temperatura, um terceiro fator importante que interfere na taxa de transpiração é o vento, que está diretamente relacionado com a resistência da camada de ar limítrofe (*ra*). Essa resistência ocorre devido à camada irrestrita de ar úmido adjacente à superfície da folha, que, com o aumento de sua espessura, modifica a extensão efetiva do caminho da difusão do vapor de água para a atmosfera. De acordo com a lei de Fick, a maior extensão do caminho da difusão diminuirá a taxa de difusão e, nesse caso, a transpiração.

A espessura da camada de ar limítrofe é determinada primariamente pela velocidade do vento. Quando o ar que circunda a folha está parado, a espessura da camada de ar limítrofe pode aumentar, elevando a resistência e diminuindo a transpiração. Nessa condição, mesmo se os estômatos estiverem com boa abertura, a transpiração será prejudicada. Com o aumento da velocidade do vento, a espessa camada de ar limítrofe que se pode ter formado é retirada, favorecendo assim a transpiração devido ao decréscimo da resistência, ou seja, do caminho a ser percorrido na difusão.

Por que a transpiração?

Argumenta-se que a transpiração é benéfica às plantas porque causa o resfriamento das folhas, ascensão da seiva e aumento na absorção de nutrientes. Embora o resfriamento seja benéfico, folhas sob sol pleno raramente são injuriadas por temperatura elevada quando a transpiração é reduzida, situação esta que pode ocorrer por murchamento temporário, provocando fechamento dos estômatos.

A transpiração aumenta a velocidade do movimento da seiva no xilema, mas experimentos têm mostrado que é improvável que isso seja essencial. A transpiração meramente aumenta a velocidade e a quantidade de água em movimento até o alto de uma planta, mas não existem evidências de que essa maior taxa seja benéfica.

Absorção e translocação de nutrientes são provavelmente aumentadas por taxa de transpiração elevada; todavia, muitas

plantas se desenvolvem bem na sombra e em habitats úmidos, onde a transpiração é baixa. Além disso, em experimentos utilizando-se elementos marcados com radioatividade, têm-se mostrado que os nutrientes continuam circulando na planta, mesmo na ausência da transpiração.

Somando-se a impossibilidade de entender claramente os benefícios da transpiração, freqüentemente esse processo resulta em estresse de água e injúrias por dessecação. Isso ocorre especialmente sob condições de elevada temperatura e baixa umidade do ar e do solo. Aparentemente, a evolução da estrutura das folhas parece ter favorecido o processamento interno da fotossíntese, possibilitando a entrada e a difusão rápida de dióxido de carbono pelos estômatos abertos, em detrimento de uma diminuição da taxa transpiratória. Exceção deve ser lembrada para plantas de habitat muito seco. Assim, a alta taxa de transpiração é o resultado inevitável da evolução dos estômatos e, conseqüentemente, das folhas, para absorção de dióxido de carbono para a fotossíntese. Os estômatos permitem que dióxido de carbono da atmosfera se difunda para dentro dos espaços intercelulares dos tecidos fotossintéticos, onde se dissolve na fase aquosa, possibilitando que ocorra a redução fotossintética.

Do ponto de vista exposto, as plantas terrestres estão adaptadas a absorver o máximo possível de dióxido de carbono da atmosfera e limitar também ao máximo a perda de água. Não há como as plantas excluam a perda de água sem, simultaneamente, obstar a entrada de dióxido de carbono na folha. A solução desse dilema para as plantas é a regulação temporal da abertura estomática, fechando-a à noite quando não fotossintetizam, evitando perda desnecessária de água. Pela manhã, desde que não haja limitações de água para a planta, é vantajoso para ela abrir os estômatos e permitir a entrada de dióxido de carbono, mesmo que isso envolva perda de água por transpiração estomática.

Em situação de estresse hídrico moderado, a abertura estomática será a máxima possível, sem que ocorra uma desidratação letal da planta, mas ainda capaz de fixar dióxido de carbono. Se o estresse persistir, a planta manterá os estômatos fechados. Com o fechamento estomático, as plantas podem manter certo turgor (maior potencial de água), o que é uma importante característica de tolerância à seca. Isso foi observado em estudos com *Vigna unguiculata* (feijão caupi), espécie cultivada em regiões secas do Brasil (Pimentel & Hébert, 1999).

A capacidade da planta de limitar a perda de água e, ao mesmo tempo, permitir suficiente absorção de dióxido de carbono pode ser expressa pela *eficiência no uso da água*. Esse parâmetro é definido como a quantidade de dióxido de carbono (CO₂) assimilado pela fotossíntese, dividido pela quantidade de água transpirada pela planta:

$$\text{Eficiência no uso da água} = \frac{\text{moles de CO}_2 \text{ fixado}}{\text{moles de água transpirada}} \quad (1.19)$$

Considerando os três tipos de plantas quanto ao metabolismo fotossintético (ver Cap. 5, Fotossíntese), as plantas C₃ têm uma eficiência no uso da água em torno de 0,002, as C₄ de 0,004 e

as plantas MAC (também denominadas de CAM, *Crassulacean Acid Metabolism*) de 0,02. Neste último grupo encontram-se as plantas mais adaptadas à condição de seca, fixando CO₂ predominantemente à noite.

FISIOLOGIA DOS ESTÔMATOS

Na equação 1.16 o numerador ($Cva_{(folha)} - Cva_{(ar)}$) e a resistência da camada de ar limítrofe (ra) são parâmetros controlados fisicamente, sem nenhum envolvimento biológico, enquanto a resistência da folha (rf), decorrente principalmente do movimento de abertura e fechamento dos poros estomáticos, é controlada biologicamente. A rf regula a saída de água e a entrada de CO₂ para a fotossíntese, dependendo da resposta do movimento estomático a diferentes fatores bióticos e abióticos. Logo, a taxa fotossintética e, como consequência, o crescimento e desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas são dependentes dos movimentos de abertura e fechamento dos estômatos. É importante, então, um conhecimento mais detalhado das características dos estômatos e dos mecanismos de controle da abertura e fechamento a partir dos movimentos das células-guardas.

Caracterização geral dos estômatos

Os estômatos são encontrados em angiospermas, gimnospermas, pteridófitas e briófitas. Nas angiospermas e gimnospermas, os estômatos podem ocorrer em caules verdes, flores e frutos. A grande maioria dos estômatos encontra-se nas folhas, com alta funcionalidade. A frequência e a distribuição dos estômatos dependem principalmente da espécie, posição da folha e condições de crescimento. Normalmente, as folhas apresentam de 30 a 400 estômatos por mm² de superfície, mas existem espécies que podem apresentar até mais de 1.000 mm⁻². *Nicotiana tabacum* (fumo), por exemplo, pode apresentar até 1.200 mm⁻².

Com exceção principalmente das monocotiledôneas herbáceas, que apresentam aproximadamente a mesma quantidade de estômatos na face abaxial (inferior) e adaxial (superior) da folha, na maioria das espécies os estômatos encontram-se em maior quantidade na face abaxial (dicotiledôneas herbáceas) ou mesmo exclusivamente localizada nessa face (dicotiledôneas lenhosas). Em plantas aquáticas com folhas flutuantes, os estômatos encontram-se apenas na face adaxial.

A abertura dos estômatos é exercida por mudanças na forma de um par de células, as células-guardas, que margeiam os poros (Fig. 1.20). Em muitas plantas, as células-guardas são circundadas por células diferenciadas das células da epiderme da folha; as células subsidiárias, que auxiliam as células-guardas no controle do poro estomático (Fig. 1.20A). As células-guardas, células subsidiárias e o poro são coletivamente chamados de *complexo estomático* ou *aparelho estomático*.

A principal característica que distingue o complexo estomático é o par de células-guardas que funciona como uma válvula operada hidráulicamente. A mudança de forma das células-guardas como consequência da absorção e perda de água leva a alterações no tamanho do poro. Quando as células-guardas estão

túrgidas, os estômatos encontram-se abertos, e, quando flácidas, os estômatos estão fechados.

O maior interesse no movimento estomático deve-se à regulação das trocas gasosas e ao consequente efeito sobre a fotossíntese e produtividade. Mais de 90% do CO₂ e do vapor de água trocados entre a planta e o ambiente ocorrem através dos estômatos.

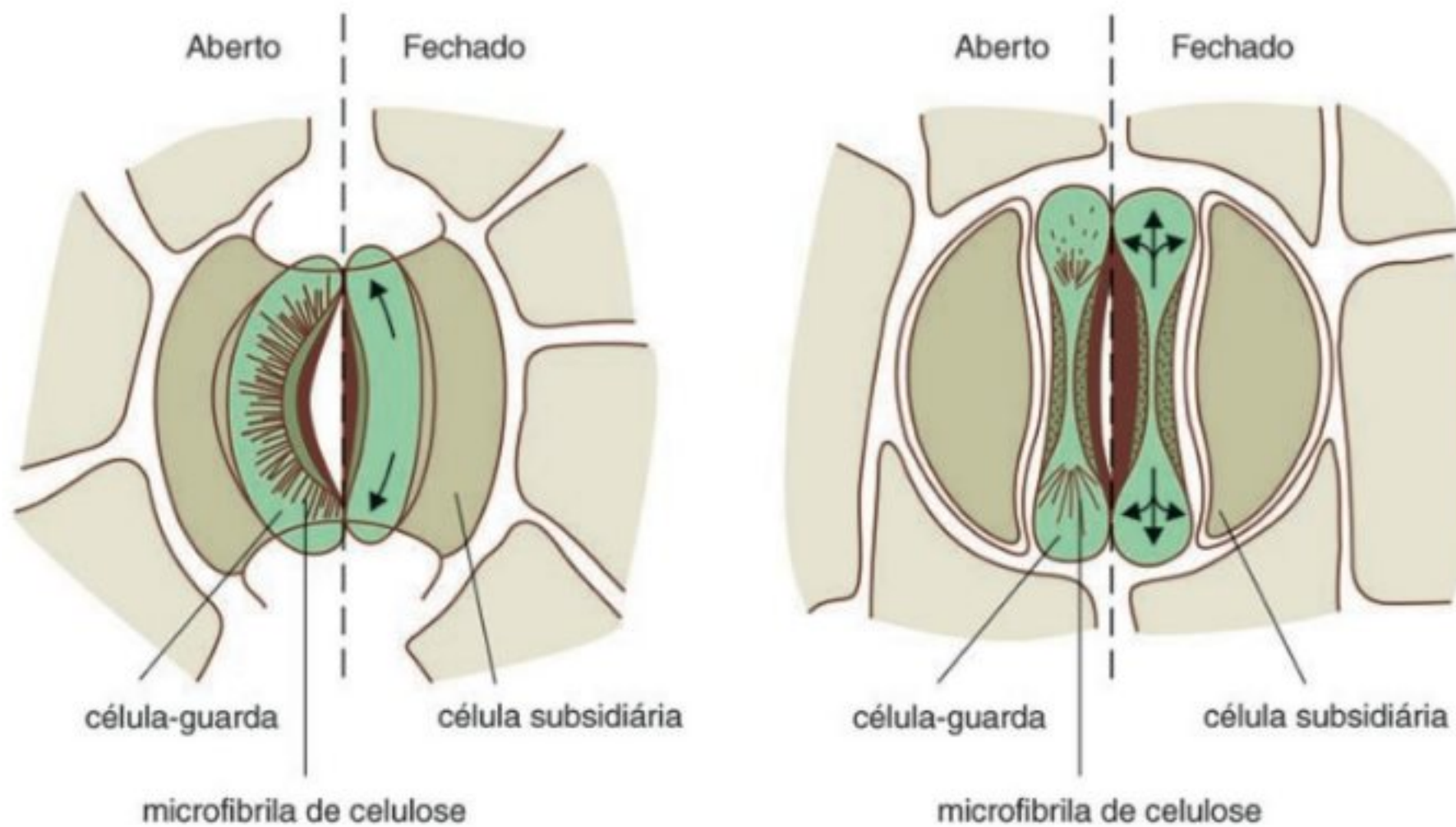
Existem dois tipos básicos de células-guardas. O mais comum é o *tipo elíptico*, reniforme, e o outro é do *tipo gramináceo*, restrito a espécies de gramíneas e outras monocotiledôneas, como as palmeiras. Nesse segundo grupo, o par de células-guardas tem formato de haltere (Fig. 1.21). Uma das características mais preponderantes da organização das células-guardas está na estrutura da parede celular. A porção da parede que circunda o poro (parede ventral) é espessada, podendo atingir até 5 μm de espessura, diferentemente das células típicas da epiderme, que apresentam paredes de 1 a 2 μm. A parede dorsal, que está em contato com as células subsidiárias, é mais fina (ver Fig. 1.21). Associado ao espessamento parcial da parede, encontra-se o alinhamento de suas microfibrilas de celulose, estas dispostas radialmente aos poros no caso dos estômatos elípticos, ou obliquamente ao eixo da parede espessada nas extremidades das células-guardas, no caso do tipo gramináceo (Fig. 1.21). Essas características resultam numa curvatura das células-guardas quando túrgidas, levando à abertura estomática.

O poro de um estômato típico totalmente aberto mede cerca de 5 a 15 μm de largura por cerca de 20 μm de comprimento. O somatório das áreas dos poros quando abertos perfaz cerca de 0,5 a 2% da área total da folha.

Quando as células-guardas se desenvolvem, *câmaras subestomáticas* ou *cavidades subestomáticas* formam-se no mesofilo foliar adjacente ao complexo estomático. Essas câmaras agem como reservatórios de gases que se estendem no interior do mesofilo (Fig. 1.19), maximizando assim a difusão de CO₂ para tecidos fotossintéticos, aumentando ao mesmo tempo o caminho de difusão do vapor de água do mesofilo para o poro estomático. Desse modo, a câmara subestomática reduz a perda de água dos tecidos fotossintéticos.

Uma outra característica interessante do complexo estomático é que nele não se observa a presença de plasmodesmas entre as células-guardas e as células da epiderme e do mesofilo (Fig. 1.19). Plasmodesmas são ligações (pontes) citoplasmáticas microscópicas, interconectando células adjacentes, funcionando como um caminho para transportes entre as células. Essas estruturas são comuns entre o mesofilo e o tecido epidérmico. A ausência dessas estruturas indica fortemente que a passagem de metabólitos das células-guardas para as células do mesofilo ou da epiderme pode não ser direta, e vice-versa.

Análises das células-guardas evidenciam também que elas diferem das outras células da epiderme na abundância de organelas. A diferença mais evidente numa angiosperma típica é que, enquanto as células da epiderme são desprovidas ou têm poucos cloroplastos, as células-guardas são dotadas dessa organela (Fig. 1.19). Os plastídeos das células-guardas são ricos em grãos de amido; entretanto, se uma comparação for feita entre inclusões

**FIGURA 1.21**

Estômatos apresentando células-guardas do tipo elíptico (à esquerda) e do gramináceo (à direita). Observa-se, nas células-guardas dos estômatos abertos, a orientação das microfibrilas de celulose, importantes para o movimento de abertura. As setas em cada estômato indicam a direção da expansão/extensão das células-guardas, que ocorre durante a abertura estomática.

de amido das células-guardas em estômatos mantidos no claro (abertos) e no escuro (fechados), será observado que o amido se acumula no escuro e diminui na luz. O contrário do que ocorre em tecidos fotossintéticos normais.

Nas células-guardas, as mitocôndrias são bem desenvolvidas e em maior número que nas células do mesofilo. Quando os estômatos se acham abertos, as células-guardas apresentam correntes citoplasmáticas, as quais indicam intensa atividade respiratória. Em relação às células epidérmicas, outras diferenças características das células-guardas são a presença de inclusões de óleo e a ausência de cristais e de pigmentos, como antocianina, por exemplo, que são abundantes nas células epidérmicas de algumas espécies.

O conhecimento das características do complexo estomático e, particularmente, das células-guardas é essencial para o entendimento do funcionamento dos estômatos. Muitas das hipóteses para explicar o comportamento estomático têm sido baseadas na observação estrutural das células-guardas. Martin *et al.* (1983) consideram que as células-guardas seriam como uma espécie de “ilhas metabólicas” sem conexão direta (isto é, plasmodesmas) com os tecidos adjacentes. Desse modo, qualquer resposta estomática rápida deve originar-se do próprio metabolismo das células-guardas em resposta ao ambiente próximo a elas, causando alterações de turgescência e movimentos de abertura ou fechamento.

Mecanismos que regulam o movimento estomático

A abertura dos estômatos ocorre devido à absorção osmótica de água pelas células-guardas, trazendo como consequência

um aumento do turgor e da pressão hidrostática (potencial de pressão, Ψ_p). Em vista das propriedades elásticas de suas paredes, as células-guardas podem, de modo reversível, aumentar seu volume de 40 a 100%, dependendo da espécie. A deformação da parede das células-guardas imposta pelo aumento de volume representa o aspecto central do movimento estomático. O fechamento estomático ocorre em resposta à saída de água das células-guardas, com diminuição da pressão de turgor e o conseqüente relaxamento de suas paredes.

Para se entender melhor o que controla a abertura e o fechamento dos estômatos, é necessário conhecer o que regula as propriedades osmóticas das células-guardas. Ao longo dos anos, vários mecanismos têm sido propostos para explicar as mudanças no potencial osmótico (Ψ_π) das células-guardas. No século XX, esses mecanismos foram relativamente bem estudados, indicando que várias áreas da ciência de plantas estão envolvidas, como a fotobiologia, relações iônicas das células e mecanismos hormonais.

Já em 1856, o botânico H. von Mohl propôs que a mudança de turgor das células-guardas seria responsável pelos movimentos dos estômatos. Em 1908, E. Lloyd sugeriu que a mudança de turgor dessas células seria dependente da interconversão de amido em açúcares solúveis, conhecida como a hipótese amido-açúcar do movimento estomático.

Conforme já descrito, os cloroplastos das células-guardas possuem grãos de amido que diminuem sua quantidade durante a abertura e a aumentam durante o fechamento estomático. O amido é um polímero de glicose, insolúvel em água, de alta massa molecular, que não contribui para o Ψ_π das células. Segundo a hipótese do amido-açúcar, a hidrólise do amido em açúcares solúveis faz com que o Ψ_π das células-guardas se torne mais nega-

tivo, diminuindo o potencial de água (Ψ_w); com isso, essas células absorvem água por osmose, tornam-se túrgidas e os estômatos se abrem.

A hipótese do amido-açúcar foi amplamente aceita até 1943, quando S. Yamamura verificou a existência de um fluxo de potássio nas células-guardas, o que foi posteriormente confirmado em estudos envolvendo técnicas mais refinadas de quantificação desse cátion. A partir de então, tem sido consistentemente mais aceito que os íons seriam os principais responsáveis pela osmorregulação das células-guardas, mais particularmente o potássio, diminuindo a importância anteriormente creditada à hipótese amido-açúcar.

Segundo essa teoria, a osmorregulação das células-guardas dever-se-ia à entrada de íons potássio (K^+) e cloreto (Cl^-) e à síntese de malato²⁻ dentro dessas células, considerados importantes solutos osmoticamente ativos nas células-guardas (Fig. 1.22; Fig. 1.23). O conteúdo de K^+ é elevado nas células-guardas, quando os estômatos estão abertos, e diminui quando fechados; a magnitude da elevação varia entre as espécies (Fig. 1.24). Durante a abertura, quantidades de K^+ movem-se das células subsidiárias e epidérmicas para dentro das células-guardas.

O fluxo de K^+ para o interior das células-guardas é possibilitado pela ativação, com gasto de ATP, de uma bomba de prótons H^+ -ATPase localizada na membrana plasmática (Fig. 1.23). Essa afirmação tem sido evidenciada pelo uso de fusococina (uma toxina produzida por um fungo parasita), conhecida por estimular a extrusão de prótons pela bomba, que estimula

a abertura estomática. As plantas infectadas morrem por desidratação. Além disso, vanadato, que inibe a bomba de prótons, inibe também a abertura estomática.

A extrusão de prótons que ocorre pela atividade da H^+ -ATPase leva a uma diferença de potencial elétrico através da membrana plasmática das células-guardas; essa diferença pode atingir até 50 mV. Com a saída de prótons, ocorre também um gradiente de pH de cerca de 0,5 a 1 unidade. Acredita-se que a hiperpolarização da membrana plasmática das células-guardas gerada pela bomba de prótons é o que possibilita a absorção de íons potássio, por causar a abertura de canais de entrada desse íon regulados por voltagem (Fig. 1.23).

Além do K^+ , o Cl^- e o malato²⁻ também aumentam nas células-guardas iluminadas, contribuindo para a abertura dos estômatos, e diminuem com os estômatos fechados (Figs. 1.23 e 1.25). Esses ânions contribuem para a neutralidade elétrica das células-guardas, visto que ocorre um acúmulo de K^+ (carga positiva) nessas células. O balanceamento é estabelecido parcialmente tanto pela entrada de íons Cl^- quanto pela produção, no citoplasma das células-guardas, de ânions orgânicos como o malato²⁻ com dois grupos COO^- . A contribuição relativa do Cl^- e do malato²⁻ para o balanceamento de cargas é variável entre as espécies.

De modo semelhante ao que ocorre com o K^+ , o Cl^- é absorvido pelas células-guardas durante a abertura estomática e expelido durante o fechamento. O malato²⁻ é sintetizado no citoplasma das células-guardas, numa via metabólica

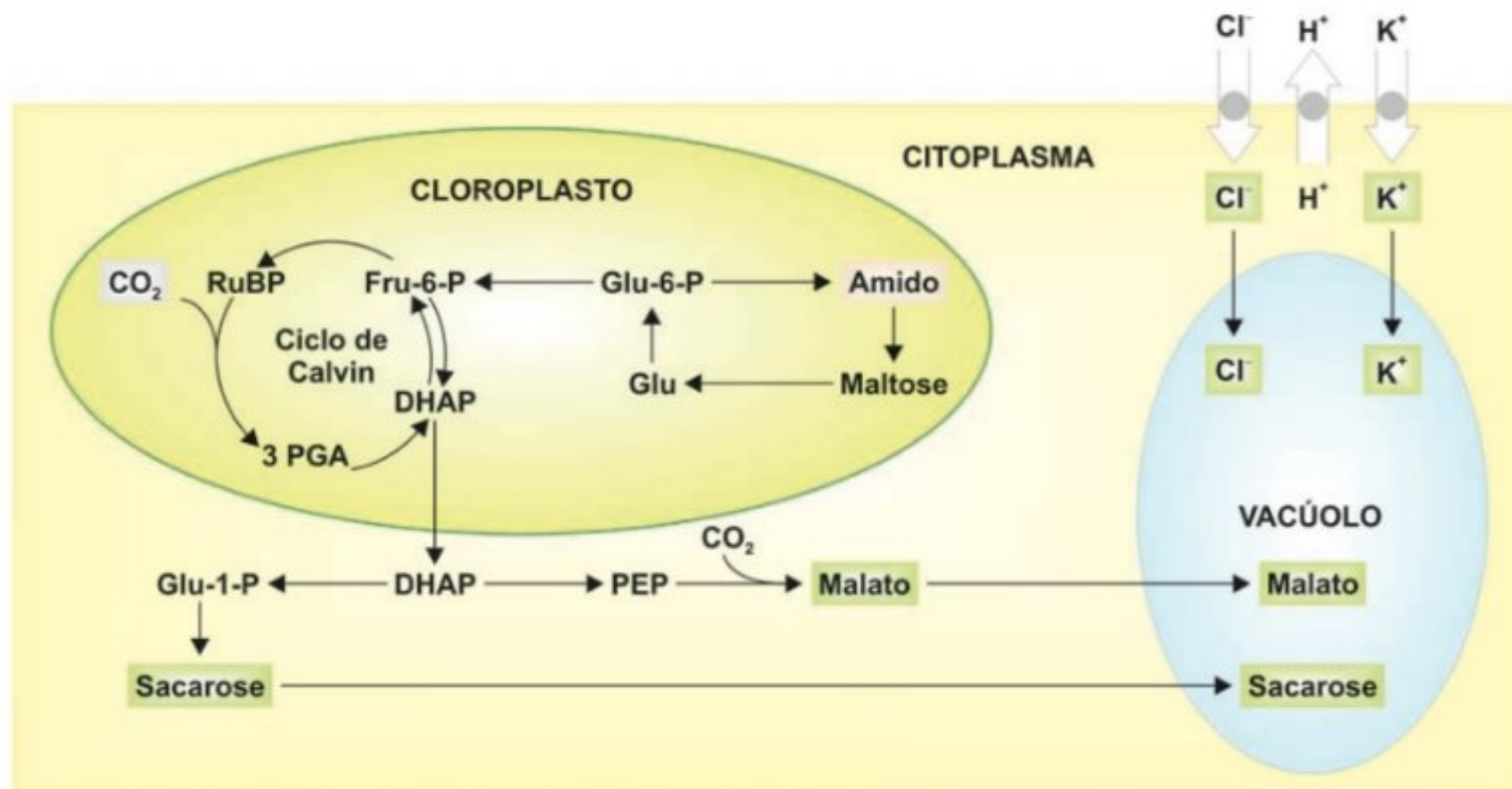


FIGURA 1.22

Acúmulo, no vacúolo, de potássio, cloreto, malato e sacarose, que são as moléculas que provocam queda no potencial osmótico das células-guardas, causando absorção de água por essas células e, conseqüentemente, abertura estomática (osmorregulação). Existem três caminhos osmorregulatórios distintos nas células-guardas: 1º) absorção de potássio e cloreto dependente da ativação de uma bomba de prótons (ATPase) da membrana e síntese de malato a partir da quebra do amido; 2º) síntese de sacarose a partir da quebra do amido; 3º) síntese de sacarose a partir da fixação do CO_2 pela fotossíntese. RuBp (ribulose-1-5-bifosfato); Fru-6-P (frutose-6-fosfato); DHAP (diidroxiacetona-3-fosfato); 3-PGA (3-fosfoglicerato); Glu (glicose); Glu-6-P (glicose-6-fosfato); Glu-1-P (glicose-1-fosfato); PEP (fosfoenol-piruvato). (Modificada de Talbott & Zeiger, 1998.)

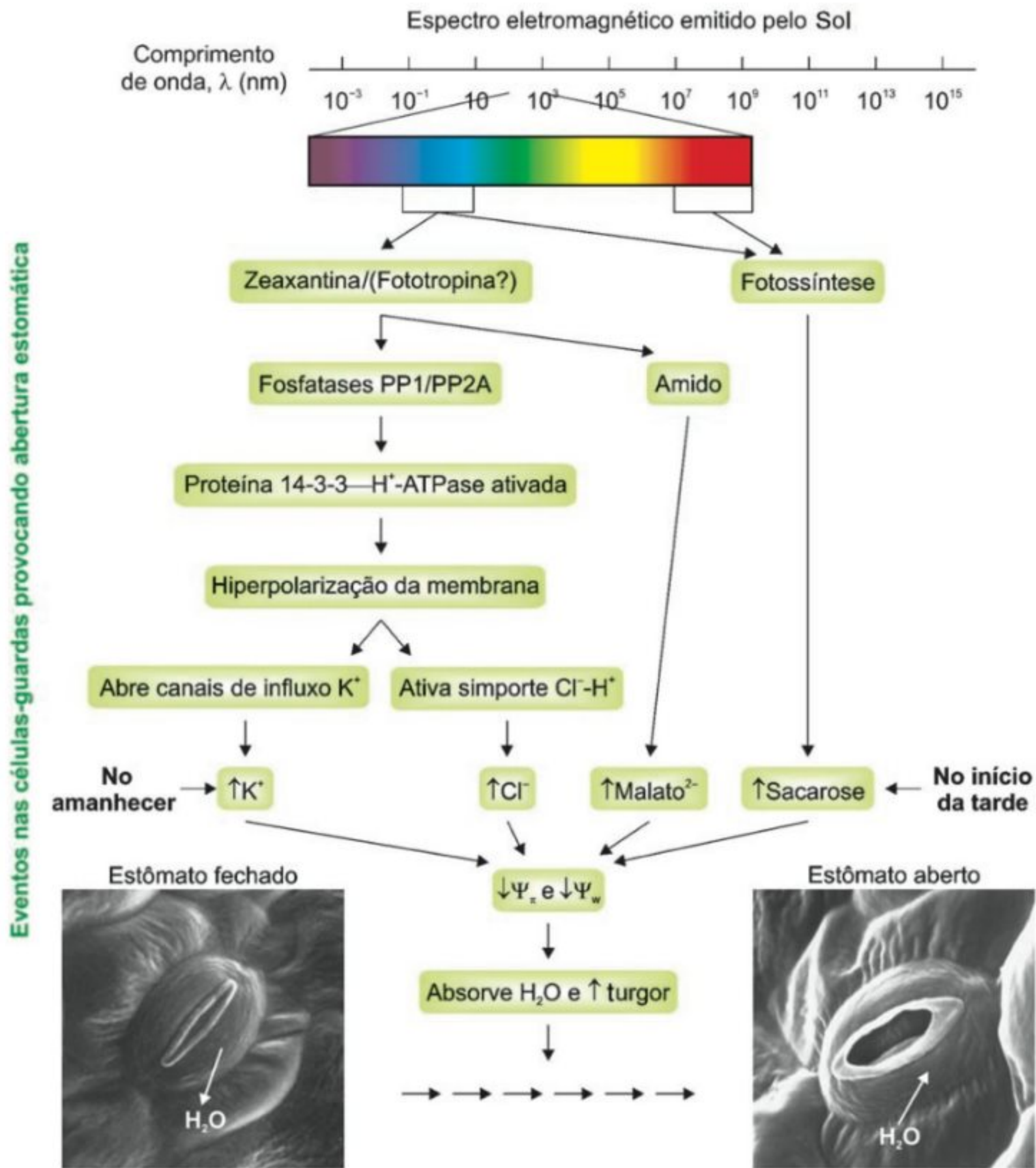


FIGURA 1.23 Esquema representativo da regulação da abertura estomática induzida pela luz. (Fotos: C. M. Pisicchio.)

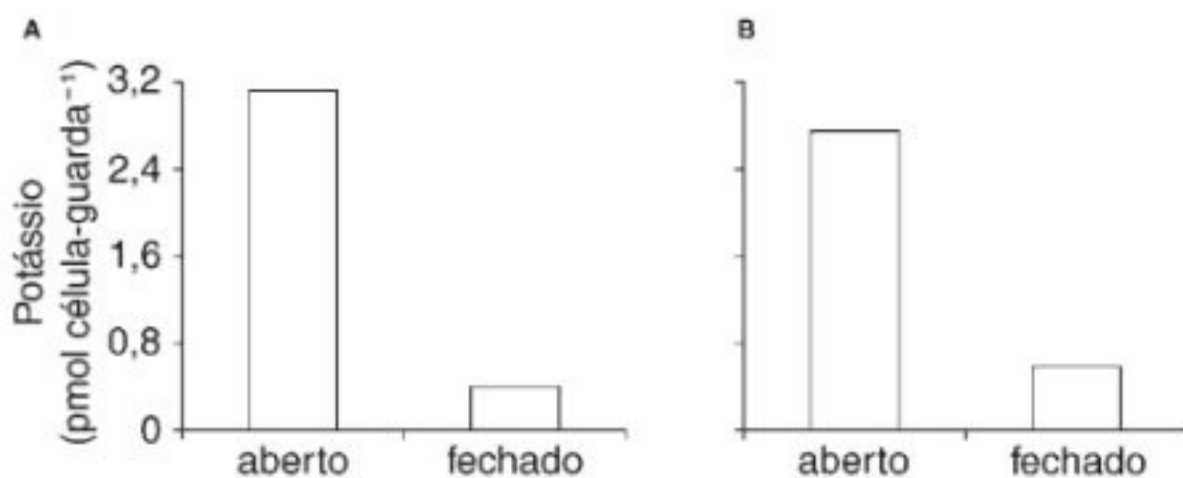


FIGURA 1.24 Conteúdo de potássio em células-guardas de estômatos abertos e fechados de *Commelina communis* (A) e *Vicia faba* (B). (Modificada de MacRobbie, 1987.)

que usa esqueletos de carbono gerados na hidrólise do amido (Fig. 1.23). Tem sido observado, em estômatos abertos, que os níveis de malato²⁻ nas células-guardas podem aumentar até seis vezes. A diminuição do conteúdo de malato²⁻ dessas células durante o fechamento estomático possivelmente se deve à sua conversão em amido, à utilização desse ânion orgânico como substrato para a respiração e/ou pela liberação para o apoplasto.

Assim como o K⁺, o fluxo de Cl⁻ depende indiretamente da bomba de prótons H⁺-ATPase. Para esse ânion, acredita-se que a bomba de prótons facilite sua absorção pela entrada compartilhada dos íons Cl⁻-H⁺, devido à ativação na membrana plasmá-

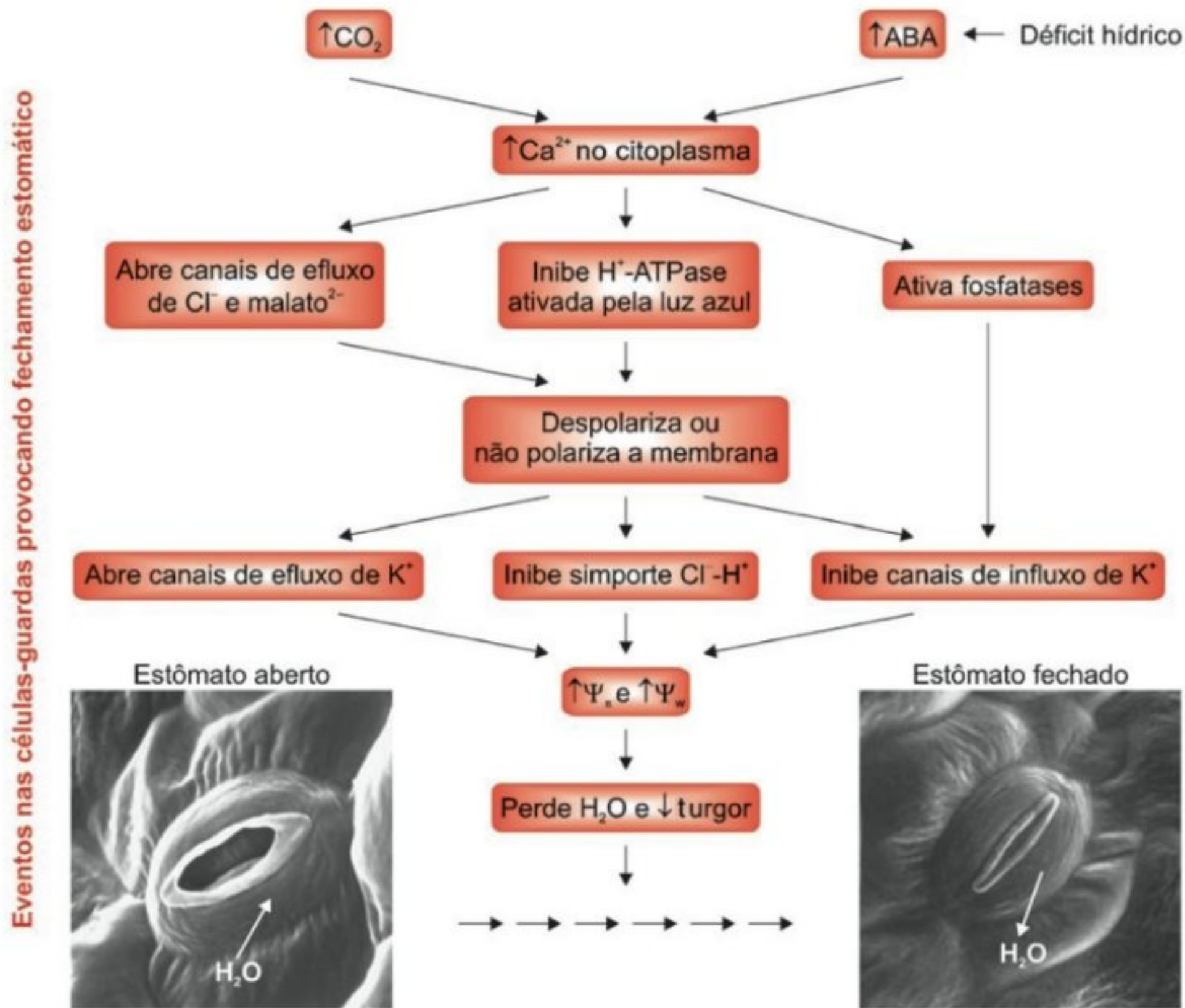


FIGURA 1.25

Esquema representativo da regulação do fechamento estomático induzido pelo déficit hídrico e pelo aumento do ABA e do CO₂. (Fotos: C. M. Pisicchio.)

tica de carregadores simporte (ver Cap. 2, Nutrição Mineral), e não por abertura de canais (Fig. 1.23).

Em resumo, o acúmulo de K⁺, Cl⁻ e malato²⁻ nos vacúolos das células-guardas torna o Ψ_{π} mais negativo, diminuindo o Ψ_w . A conseqüente absorção de água aumenta o turgor dessas células e ocorre a abertura dos estômatos (ver Figs. 1.22 e 1.23).

Considerando as hipóteses apresentadas, nota-se que a abertura estomática é um processo que demanda gasto de energia. As presenças de cloroplastos, mitocôndrias e enzimas respiratórias nas células-guardas indicam a necessidade de produção de ATP nessas células. Análises sobre a geração de energia pelas células-guardas evidenciam que estas são dotadas de total capacidade de produzir, pela respiração ou fotossíntese, toda energia necessária para a abertura estomática (Assmann & Zeiger, 1987).

Apesar de, nas últimas décadas, ter havido grande ênfase para o papel do K⁺, Cl⁻ e malato²⁻ na osmorregulação das células-guardas, mais recentemente têm sido retomados os estudos sobre o papel da sacarose. Estudos de acompanhamento diário do movimento estomático em folhas intactas de *Vicia faba* têm mostrado que o conteúdo de K⁺ nas células-guardas aumenta em paralelo com a abertura no amanhecer, mas decresce no início da tarde, quando a abertura continua a ocorrer. O conteúdo

de sacarose das células-guardas aumenta lentamente durante a manhã, tornando-se, no início da tarde, o soluto osmoticamente ativo mais importante para a manutenção da abertura (Fig. 1.23). Além disso, o fechamento estomático no fim do dia ocorre simultaneamente com um decréscimo no conteúdo de sacarose das células-guardas (Talbot & Zeiger, 1998). A importância da existência de fases osmorregulatórias distintas, uma dominada pelo K⁺ (abertura pela manhã) e outra pela sacarose (abertura à tarde), não é ainda bem compreendida.

De um modo geral, o fechamento estomático não tem despertado a mesma atenção que o movimento de abertura, embora geralmente se considere que os estômatos são levados ao fechamento por um processo inverso ao da abertura. Ocorre perda de solutos pelas células-guardas, resultando num aumento do Ψ_w (menos negativo), fazendo com que saia água dessas células e diminua a pressão de turgor. Em razão de a velocidade do fechamento estomático ser alta, tem sido sugerido que outras bombas metabólicas específicas seriam responsáveis pela extrusão ativa de íons durante o fechamento (MacRobbie, 1987).

Há cerca de 30 anos, tem sido reconhecido que íons de cálcio (Ca²⁺) podem controlar a abertura do poro estomático. A adição de Ca²⁺ a soluções em que se encontram incubados fragmentos

de epiderme isolados de folhas pode estimular o fechamento ou inibir sua abertura (Mansfield *et al.*, 1990). A presença do Ca^{2+} inibe a turgescência induzida pelo K^+ , Cl^- e malato $^{2-}$ em protoplastos de células-guardas (células cujas paredes foram removidas). Evidências experimentais têm indicado que certos sinais para o fechamento estomático, como o hormônio vegetal ácido abscísico (ABA) (ver Cap. 12, Ácido Abscísico), estimulam a absorção de Ca^{2+} para dentro do citoplasma das células-guardas (Fig. 1.25) (no próximo item será abordado mais detalhadamente o papel do ABA e da luz no movimento estomático).

Postula-se que, estimulada pelo ABA, a entrada de Ca^{2+} nas células-guardas provocaria uma cadeia de eventos na qual se inclui a abertura de canais de ânions que permitiria a saída de Cl^- e malato $^{2-}$. Essa perda de ânions iria favorecer a despolarização da membrana, abrindo canais de saída de K^+ das células-guardas. A perda desses solutos pelas células-guardas levaria ao aumento do Ψ_π e, conseqüentemente, do Ψ_w , fazendo com que ela perca água, diminuindo o turgor e fechando os estômatos (Fig. 1.25).

A fosforilação de proteínas desempenha um importante papel na modulação da atividade dos canais de entrada de K^+ nas células-guardas. O Ca^{2+} pode interferir na atividade desses canais, indiretamente, como ativador de proteínas fosfatases que inibem a atividade dos canais (Fig. 1.25). Tratamento com inibidores de uma proteína fosfatase dependente de Ca^{2+} mantiveram a atividade de canais de potássio, mesmo com elevado nível de Ca^{2+} no citoplasma de células guardas de *Vicia faba* (Luan *et al.*, 1993). Sendo assim, os íons Ca^{2+} podem provocar o fechamento estomático ou inibir a abertura, tanto pela inibição da abertura de canais de efluxo de Cl^- e malato $^{2-}$ e inativação da bomba de prótons H^+ -ATPase, quanto pela inibição indireta dos canais de entrada de K^+ , via ativação de fosfatases (Fig. 1.25).

Controle do movimento estomático

Fatores ambientais, como nível de água, temperatura, qualidade e intensidade de luz e concentração intracelular de dióxido de carbono, controlam o movimento de abertura e fechamento dos estômatos. Esses fatores funcionam como sinais que são percebidos pelas células-guardas e integrados dentro de uma resposta estomática bem definida. Assim, por exemplo, se folhas mantidas no escuro são iluminadas, a luz percebida pelas células-guardas desencadeia uma série de respostas, resultando na abertura do poro estomático tornando possível a entrada do CO_2 e a realização da fotossíntese. Quando o nível de dióxido de carbono no interior da folha for alto, os estômatos se fecham parcialmente, preservando assim o nível de água e permitindo a realização da fotossíntese. Um dos principais fatores limitantes para o emprego da chamada “adubação com CO_2 ” deve-se justamente ao fechamento estomático induzido pelo aumento da concentração desse gás imposto artificialmente ao ambiente.

ÁGUA E TEMPERATURA

Visto que a abertura estomática só ocorre quando as células-guardas se encontram túrgidas, qualquer alteração na hidratação

das plantas afetará o movimento dos estômatos. Quando acontece de as células-guardas perderem mais água para a atmosfera do que sua capacidade de absorver das células vizinhas, ocorre um decréscimo na turgidez dessas células, provocando o fechamento estomático; é o chamado *fechamento hidropassivo*.

Além disso, as células-guardas podem perceber certa deficiência de água do mesófilo, antes mesmo de ocorrer alguma diminuição de sua turgidez, e fechar os estômatos, mecanismo esse mediado pelo ABA. Essa resposta ao estresse hídrico é chamada de *fechamento hidroativo*. O estresse moderado de água nas folhas leva à síntese de ABA, o qual, chegando nas células-guardas, sinaliza a ocorrência de um estresse hídrico nas proximidades, induzindo o fechamento dos estômatos. Alguns minutos após o início do fechamento, ocorre aumento na síntese de ABA também nas células-guardas. Tal sinalização pelo ABA pode originar-se nas próprias raízes, “informando” sobre a existência de um estresse hídrico no solo.

O início da resposta do fechamento hidroativo, aparentemente, é mediado por ABA, oriundo do mesófilo ou de outras partes da planta, como as raízes, adiantando assim uma redução na perda de água. Entretanto, o fechamento prolongado poderá ser sustentado pela manutenção da síntese desse hormônio nas células-guardas em resposta ao estresse de água (Fig. 1.25).

A temperatura influencia indiretamente o movimento estomático. Isso ocorre porque tal movimento encontra-se acoplado ao metabolismo das células-guardas; qualquer fator que afete o metabolismo afetará também o movimento dos estômatos. Sabe-se que a elevação da temperatura aumenta a atividade de qualquer célula até um ponto ótimo, após o qual ocorre um declínio. O aumento da temperatura resulta em aumento da respiração em maior grau que a fotossíntese. Essa resposta pode levar a um aumento concomitante da concentração intracelular de CO_2 , e este desencadear o fechamento estomático. O papel do CO_2 no movimento estomático será discutido a seguir.

DIÓXIDO DE CARBONO E LUZ

A luz é o sinal ambiental mais proeminente no controle dos movimentos estomáticos. Os efeitos da luz e do CO_2 estão intimamente ligados, porque a concentração de CO_2 se altera como uma função da taxa fotossintética. O real mecanismo pelo qual o CO_2 regula o movimento estomático não é totalmente entendido. Evidências experimentais têm indicado que concentrações elevadas de CO_2 podem elevar os níveis de Ca^+ no citoplasma das células-guardas, provocando assim o fechamento estomático (Webb *et al.*, 1996). Essas evidências sugerem que a forma como o CO_2 pode atuar no fechamento estomático, via aumento da concentração de Ca^+ , é semelhante ao papel do ABA nesse processo (Fig. 1.25).

A importância de estudos envolvendo o CO_2 pode ser visualizada, por exemplo, na necessidade de uma avaliação do impacto do aumento global da concentração desse gás na atmosfera, sobre as plantas na Terra. Mansfield *et al.* (1990) propuseram que as células-guardas respondem ao CO_2 de duas maneiras diretamente opostas. (1) As células-guardas podem ficar mais túrgidas com

o aumento da concentração de CO_2 , porque esse gás favorece a formação de malato. (2) As células-guardas podem diminuir o turgor com o aumento da concentração de CO_2 . Isso pode envolver a modulação da fotofosforilação e/ou fosforilação oxidativa nas células-guardas pelo CO_2 , conhecida como hipótese de Zeiger (Zeiger *et al.*, 1987).

O que se tem notado é que as respostas ao CO_2 são variáveis, e parecem relacionar-se à história da planta e, também, às condições do ambiente. No escuro, o fechamento das células-guardas pode ser atribuído ao acúmulo de CO_2 respiratório dentro da folha.

Estudos desenvolvidos com estômatos de epiderme destacadas, mantidas em ambientes com concentração de CO_2 constante, têm mostrado uma resposta específica dos estômatos à luz. Baseando-se em análises fotobióticas e metabólicas, tem sido observado que a resposta à luz é a expressão integrada de dois sistemas de fotorreceptores distintos, um dependendo da fotossíntese nas células-guardas e o outro dirigido por uma resposta específica à luz azul (Fig. 1.23).

A resposta da abertura estomática à luz branca é parcialmente inibida por DCMU (diclorofenildimetiluréia), um inibidor do transporte de elétrons da fotossíntese. Esses resultados indicam que a fotossíntese nas células-guardas é um caminho osmorregulador importante por produzir sacarose (Fig. 1.23). No entanto, a observação de que a inibição é parcial sugere um componente não fotossintético envolvido com a resposta estomática à luz.

Uma evidência suficientemente consistente de que a luz tem um efeito direto e independente da fotossíntese sobre o movimento estomático foi obtida com experimentos em que se utilizou luz vermelha até a saturação da resposta fotossintética. Após essa saturação, baixos fluxos de luz azul foram adicionados quando se observou substancial incremento na abertura dos estômatos. Além disso, estudos com protoplastos isolados de células-guardas têm mostrado que estes se tornam túrgidos em resposta à luz azul, indicando que esse tipo de luz é percebido dentro das próprias células-guardas.

A resposta dos estômatos à luz vermelha é provavelmente indireta, mediada pelos cloroplastos das células-guardas, onde ocorre a fotossíntese. A resposta ao espectro de ação da luz azul é direta (Fig. 1.23). Em plantas têm sido identificados três tipos de fotorreceptores de luz azul: as proteínas criptocromos e fototropinas e o pigmento carotenóide zeaxantina. Os criptocromos e as fototropinas estão envolvidos na inibição do alongamento caulinar e no fototropismo, respectivamente. Já a *zeaxantina* é que funciona como pigmento receptor da luz azul nas células-guardas, provocando abertura estomática (Fig. 1.23). Evidências importantes sobre isso são: o espectro de ação da luz azul para a abertura estomática é muito semelhante ao espectro de absorção de luz da zeaxantina; a inibição por ditioneitol (DTT), bloqueador da síntese de zeaxantina, inibe a abertura estomática estimulada pela luz azul. Trabalhos mais recentes têm obtido resultados indicando que as *fototropinas* também podem funcionar como receptor de luz azul nas células-guardas e podem estar envolvidas na abertura estomática (Fig. 1.23) (Stoelzle *et al.*, 2003; Marten *et al.*, 2007).

Tem sido sugerido que a luz azul controla a atividade da bomba de prótons H^+ -ATPase, por um caminho envolvendo a zeaxantina ou as fototropinas. Essas moléculas absorvem luz azul, provocando, possivelmente, uma cadeia de eventos que leva à ligação de proteínas 14-3-3 (família de proteínas que se liga às proteínas sinalizadoras como, por exemplo, H^+ -ATPase; o nome 14-3-3 diz respeito ao padrão de migração dessas proteínas em gel de eletroforese) diretamente à bomba de prótons H^+ -ATPase ativando-a, levando à abertura dos estômatos (Fig. 1.23) (Kinoshita & Shimazaki, 1999).

Além disso, tem sido observado que inibidores de proteínas fosfatases PP1 ou PP2A provocam inibição da bomba de prótons H^+ -ATPase ativada pela luz azul. Esses resultados sugerem que, na cadeia de eventos que leva à ativação da bomba de prótons H^+ -ATPase, mencionada no parágrafo anterior, as fosfatases PP1 e PP2A são importantes para indução da abertura estomática mediada por esse tipo de luz (Fig. 1.23) (Kinoshita & Shimazaki, 1997).

Diversos estudos têm registrado que a luz azul, além de ativar a bomba de prótons H^+ -ATPase da membrana plasmática das células-guardas, estimula a biossíntese de malato (Fig. 1.23). Quando irradiadas com luz vermelha, ocorre acúmulo de sacarose sintetizada na fotossíntese das células-guardas (Talbot & Zeiger, 1998), e, se baixos fluxos de luz azul são adicionados à luz vermelha, as células-guardas passam a acumular K^+ , Cl^- e malato²⁻ (Fig. 1.22; Fig. 1.23).

A resposta à luz azul em condições naturais é importante para a abertura dos estômatos antes do amanhecer. Frequentemente se observa abertura estomática antes do nascer do Sol, quando a radiação é bem menor do que a requerida pela fotossíntese. De um ponto de vista ecofisiológico, a resposta à luz azul anteciparia a necessidade de CO_2 atmosférico favorecendo a abertura estomática, preparando para uma fotossíntese ativa.

Existem evidências de que a inibição da abertura estomática induzida pelo aumento de Ca^{2+} no citoplasma, provocado pelo ABA, é maior em estômatos irradiados com luz azul, não apresentando nenhum efeito sobre a abertura estimulada pela luz vermelha (Parvathi & Raghavendra, 1997). Tal constatação está de acordo com as observações de que, além das aberturas de canais de saída de Cl^- , malato²⁻ e K^+ das membranas das células-guardas, mencionadas anteriormente, o ABA, através do aumento nas concentrações de Ca^{2+} citosólico, interfere também na atividade das bombas de prótons H^+ -ATPase, que é uma resposta ligada ao papel da luz azul (Fig. 1.25). (Mais detalhes sobre o mecanismo de ação do ABA envolvendo o Ca^+ no movimento estomático, ver Cap. 12, Ácido Abscísico.)

Sendo assim, o ABA pode tanto inibir a abertura quanto provocar o fechamento estomático. Quando, indiretamente, esse hormônio provoca a inibição da bomba de prótons H^+ -ATPase e dificulta a hiperpolarização da membrana, faz com que não haja aberturas de canais de influxo de K^+ e inibe a abertura estomática (Fig. 1.25). Quando, indiretamente, promove a ativação de canais de saída de Cl^- e malato²⁻, que leva à despolarização da membrana e à ativação de canais de efluxo de K^+ , provoca o fechamento estomático (Fig. 1.25).

Em síntese, pautando-se nos resultados e sugestões mencionados pode-se inferir, com relativa segurança, que o K^+ , Cl^- , malato²⁻ e sacarose estão envolvidos na redução do Ψ_w das células-guardas, favorecendo, por conseguinte, a turgescência destas. O K^+ , o Cl^- e o malato²⁻ acumulam-se nas células-guardas estimulados pela luz azul. No entanto, o acúmulo dessas substâncias pode deixar de ocorrer se houver um aumento no nível de ABA, que ocorre em situação de estresse de água. Por outro lado, a sacarose se acumula nas células-guardas estimulada pela luz vermelha, a partir da fixação do CO_2 fotossintético, não apresentando sensibilidade ao ABA. Mas, caso ocorra um estresse hídrico, os estômatos deverão fechar-se parcialmente, dificultando a entrada de CO_2 . O bloqueio à entrada de CO_2 vai limitar a taxa fotossintética, prejudicando o crescimento e o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas e, conseqüentemente, a produção agrícola e a manutenção da qualidade de muitos ecossistemas naturais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Dra. Sandra Colli dos Anjos, ao Dr. Edmilson Bianchini e ao Dr. Moacyr E. Medri pelas importantes colaborações.

REFERÊNCIAS

- Assmann SM, Zeiger E. Guard cell bioenergetics. In: Zeiger E, Farquhar GD, Cowas IR (eds). *Stomatal Function*. Stanford University Press, Stanford, 1987. pp. 163-193.
- Kinoshita T, Shimazaki K-I. Involvement of calyculin A- and okadaic acid-sensitive protein phosphatase in the blue light response of stomatal guard cells. *Plant Cell* 1997; 38:1281-1285.
- Kinoshita T, Shimazaki K-I. Blue light activates the plasma membrane H^+ -ATPase by phosphorylation of the C terminus in stomatal guard cells. *EMBO Journal* 1999; 18:5548-5558.
- Luan S, Li W, Rusnak F, Assmann SM, Schreiber SL. Immunosuppressants implicate protein phosphatase regulation of K^+ channels in guard cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1993; 90:2202-2206.
- MacRobbie EAC. Ionic relations of guard cells. In: Zeiger E, Farquhar GD, Cowas IR (eds.). *Stomatal Function*. Stanford University Press, Stanford, 1987. pp. 125-162.
- Mansfield TA, Hetherington AM, Atkinson CJ. Some current aspects of stomatal physiology. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1990; 41:55-75.
- Marten H, Hedrich R, Roelfsema MRG. Blue light inhibits guard cell plasma membrane anion channels in a phototropin-dependent manner. *The Plant Journal* 2007; 50:29-39.
- Martin ES, Dondin ME, Stevens RA. *Stomata*. Edward Arnold (Publishers) Ltd, London, 1983.
- Nobel PS. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press, New York, 1991.
- Parvathi K, Raghavendra AS. Blue light-promoted stomatal pening in abaxial epidermis of *Commelina benghalensis* in maximal at low calcium. *Physiologia Plantarum* 1997; 101:861-864.
- Passioura JB. The meaning of matric potential. *Journal Experimental of Botany* 1980; 31:1161-1169.
- Perez SCJG, Moraes JAPV. Determinações de potencial hídrico, condutância estomática e potencial osmótico em espécies dos estratos arbóreo, arbustivo e herbáceo de um cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 1991; 3:27-37.
- Pimentel C, Hébert G. Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 1999; 11:7-11.
- Sasaki RM, Machado EC, Lagôa AMMA, Felipe GM. Effect of water deficiency on photosynthesis of *Dalbergia miscolobium* Benth., a cerrado tree species. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 1997; 9:83-87.
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED, Hemmingsen EA. Sap pressure in vascular plants. *Science* 1965; 146:339-346.
- Stoelzle S, Kagawa T, Wada M, Hendrich R, Dietrich P. Blue light activates calcium-permeable channels in *Arabidopsis* mesophyll cells via the phototropin signaling pathway. *Plant Biology* 2003; 3:1456-1461.
- Talbott LD, Zeiger E. The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *Journal Experimental of Botany* 1998; 49:329-337.
- Webb AAR, McAinsh MR, Mansfield TA, Hetherington AM. Carbon dioxide induces increases in guard cell cytosolic free calcium. *Plant Journal* 1996; 9:297-304.
- Zeiger E, Farquhar GD, Cowan IR. *Stomatal Function*. Stanford University Press, Stanford, 1987.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Buchanan BB, Gruissen W, Jones RL. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Maryland, 2000.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1999.
- Kramer PJ, Boyer JS. *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press, San Diego, 1995.
- Milburn JA. *Water Flow in Plants*. Longman, London, 1979.
- Nobel PS. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press, New York, 1991.
- Salisbury FB, Ross CW. *Plant Physiology*. 4ª edição. Wadsworth Publishing Company, Inc. Belmont, California, 1995.
- Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D. Guard Cell Signal Transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 2001; 52:627-658.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. 2ª edição. Sinauer Associates, Inc, Publishers, Sunderland, 2002.

CAPÍTULO 2

Nutrição Mineral

Arnoldo Rocha Façanha, Luciano Pasqualoto Canellas e Leonardo Barros Dobbss

INTRODUÇÃO

A nutrição de plantas ou, primariamente, questões sobre qual seria o alimento das plantas e como elas o adquirem têm permeado toda a história da humanidade, remontando ao abandono do nomadismo e ao estabelecimento das primeiras civilizações. Conhecimentos acumulados após milhares de anos de observação culminaram na seleção e cultivo de certas espécies vegetais que passaram a prover um sistema estável e controlado para a subsistência humana, desencadeando a primeira revolução tecnológica da história. O desenvolvimento da agricultura permitiu o aparecimento de novas ordens socioculturais fundadas, em sua origem, na escolha de áreas mais férteis, levando, entre o 4º e o 3º milênio antes de Cristo, ao aparecimento quase simultâneo das primeiras civilizações às margens dos grandes rios: rio Amarelo na China, rio Indo na Índia, rio Nilo no Egito, rio Jordão na Palestina e rios Tigre e Eufrates na Mesopotâmia (atual Iraque). Estes povos logo aprenderam a associar a fertilidade dessas terras ao húmus, produto da matéria orgânica em decomposição depositada no solo, datando de 4000 a.C. os primeiros indícios da adubação com o uso de esterco e outros resíduos orgânicos.

Como as plantas constituíram a base da alimentação, dos remédios, do vestuário e da moradia, o entendimento de suas necessidades para uma crescente produtividade atraiu o interesse de eminentes pensadores da humanidade, desde os antigos filósofos chineses e gregos pré-socráticos do século V a.C. até laureados do Prêmio Nobel de nosso tempo. Demócrito de Abdera (460-360 a.C.), filósofo grego que cunhou a palavra 'átomo' para descrever a menor parte da matéria, enunciou: "A terra mãe quando fertilizada pela chuva dá vida às plantas que alimentam homens e bestas. Mas aquilo que veio da terra a ela deve retornar, assim como o que veio do ar ao ar voltará. Pois a morte não destrói a matéria, mas somente quebra a união de seus elementos, os quais

voltam a se recombinar em outras formas". Este conceito primordial de ciclagem da matéria orgânica foi consolidado, somente mil e oitocentos anos depois, por estudos empíricos de Bernard Palissy (1510-1589), o qual concluiu que a fertilidade de solos suplementados com cinzas de vegetais incinerados decorria da reposição da matéria que do solo havia sido removida pelas plantas (Browne, 1943). Mas a primeira teoria amplamente difundida sobre a nutrição de plantas não tratava da matéria, e sim da existência de uma força vital presente no húmus a qual seria transferida à planta. O Humismo, como ficou conhecida esta teoria vitalista, previa também uma conexão espiritual entre os benefícios do húmus ao solo, às plantas e ao próprio Homem. Curiosamente, o termo húmus na antiga Grécia era usado para designar a terra fértil, mas também significava Homem. Este vínculo místico da antigüidade perdurou durante todo o período medieval, por ser filosoficamente alinhado à doutrina vitalista que fundamentava a estrutura hegemônica de poder do clero e da aristocracia feudal. De fato, até a época dos últimos defensores do princípio vital geral denominado 'flogístico' (ver 'phlogiston'; Georg Stahl, 1660-1734), imperou uma idéia bastante confusa e mística sobre a nutrição das plantas.

O experimento de Jan Baptist van Helmont (1580-1644), realizado na década de 1650, representou um marco de transição entre o mundo espiritual medieval e o mundo mecanicista da Renascença. Durante cinco anos, van Helmont acompanhou o crescimento de um salgueiro plantado em um grande vaso, e havendo medido o peso do vaso, da terra e da muda, imputou o incremento de massa da planta à água da irrigação. Porém, como seus contemporâneos, van Helmont também era defensor convicto do princípio vital, o que de certa forma explica os problemas de seu desenho experimental que não previa a necessidade de anotações ou mesmo estimativas do peso da água adicionada. Décadas depois, John Woodward (1665-1728) verificou que a

água contendo partículas de solo ou detritos orgânicos era mais eficiente na promoção do crescimento vegetal do que a água da chuva, concluindo que a água teria a função de carrear elementos do solo para a planta. Mas foi somente no século XVIII, após a institucionalização da Ciência e a ampla difusão do Método Científico Cartesiano, que os cientistas renascentistas passaram a desenvolver experimentos criteriosamente controlados e, mesmo contando somente com a precária base tecnológica da época, elucidaram o papel central dos minerais, da água, dos gases e da luz no crescimento vegetal.

O processo fotossintético começou a ser desvendado a partir dos trabalhos independentes de Joseph Priestly (1733-1804), Jan Ingen-Housz (1730-1799) e Jean Senebier (1742-1809), os quais em conjunto demonstraram que, na dependência de luz, os tecidos verdes das plantas incorporam o gás carbônico (CO_2) e produzem um outro gás, o oxigênio (O_2). Nicolas-Theodore de Saussure (1767-1845) incluiu a água no processo fazendo uso brilhante da Lei de Conservação das Massas, que havia sido publicada pela primeira vez em 1760, num ensaio de Mikhail Lomonosov (1711-1765), mas que somente 14 anos depois se tornou mundialmente reconhecida com os trabalhos de Antoine Lavoisier (1743-1794). Saussure calculou que a soma da massa de CO_2 incorporada só se correlacionava com o aumento da biomassa da planta, considerando o O_2 liberado, se a massa da água fosse incluída na equação da fotossíntese. Mais tarde, Julius Mayer (1814-1878) aplicou princípios termodinâmicos ao processo, prevendo que não somente a massa era conservada, mas a energia também, e assim postulou que a energia da luz seria convertida em energia química contida na biomassa vegetal. O tratado de Saussure sobre a química do desenvolvimento das plantas (de Saussure, 1804), além de aspectos relacionados à fixação de carbono, preconizava que determinados minerais encontrados nas cinzas das plantas seriam elementos essenciais, e não ingredientes acidentais absorvidos da solução do solo, ainda que detectados em quantidades diminutas.

Evidências experimentais que permitiram a comprovação e a ampliação das descobertas de Saussure foram obtidas posteriormente por uma série de pesquisadores, com destaque para as obras de Jean-Baptiste Boussingault (1802-1887), sobre as bases da fertilização orgânica, Carl Sprengel (1787-1859), idealizador da teoria que gerou a famosa Lei do Mínimo, e Justus von Liebig (1840-1855), o eminente químico alemão que compilou os principais dados existentes até então para forjar as bases da teoria moderna da Nutrição Mineral de Plantas, teoria esta que obtivera grande parte de seu suporte experimental pelas mãos de outro eminente pesquisador alemão, Julius von Sachs (1832-1897), o qual aprimorou o método de cultura de plantas proposto inicialmente por Woodward, desenvolvendo a primeira solução nutricional composta que permitiu as primeiras comprovações de essencialidade de certos nutrientes (Sachs & Knop, 1860; 1865). Sobre essas fundações ergueu-se a nova Ciência do Solo que se concretiza com Vassili Dokutchayev (1843-1903), mentor da filosofia que finalmente conectou cientificamente o solo às inúmeras e dinâmicas relações existentes entre rochas, águas, clima, flora e fauna, e especialmente ao homem.

Discípulos desses eminentes pesquisadores desenvolveram a tecnologia dos fertilizantes, e a geração seguinte aprimorou a técnica de hibridização produzindo variedades aptas a produzir mais e em regiões antes inexploradas pela agricultura, sustentando a explosão demográfica e demolindo os limites previstos por Thomas Malthus (1766-1834). Em 1970 o Prêmio Nobel da Paz fora concedido a Norman Borlaug (nascido em 1914; em 2007, aos 93, permanece um ativo e requisitado conferencista) por sua contribuição no combate à fome, ao fornecer as bases científicas do desenvolvimento de novos cultivares com alta resistência e produtividade, fundando a chamada “Revolução Verde”. A partir dessa época surgiu um novo paradigma na nutrição de plantas, no qual, para além das suplementações do solo, passou-se a perseguir a transformação da própria planta num organismo mais apto a explorar os recursos disponíveis sob as diferentes condições ambientais. Tal revolução, apoiada nos conhecimentos acumulados sobre as bases químicas e biológicas dos componentes relacionados à nutrição vegetal, possibilitou uma descomunal expansão das áreas cultivadas e do potencial produtivo das culturas, por meio de técnicas de hibridização, intensa mecanização e aplicação de pesticidas e fertilizantes químicos.

Porém, os efeitos deletérios desta agricultura industrial, sobre o ambiente e a saúde humana, têm levado ao resgate de práticas ancestrais, como a fertilização orgânica, que em pleno século XXI renasce como uma prática mais adequada aos princípios emergentes de produção sustentada e conservação ambiental. A atual pesquisa científica nesta linha tem revelado as bases estruturais e funcionais da ação das substâncias húmicas sobre as plantas, que parece mais relacionada a reguladores de crescimento presentes em sua macroestrutura do que ao seu conteúdo nutricional (Canellas *et al.*, 2006). Noutra corrente seguem os arautos da nova era da biotecnologia que, paradoxalmente, também buscam a libertação dos insumos químicos, mas por outros meios, através da transformação genética das espécies visando adequá-las especificamente a cada desafio imposto pelo ambiente e às exigências de produtividade e qualidade crescentes.

Atualmente a pesquisa e o desenvolvimento no campo da Nutrição Mineral de Plantas é uma área de domínio essencialmente interdisciplinar em contínua expansão, transcendendo os limites da fisiologia vegetal e da química do solo, tornando-se atualmente um ponto de convergência para estudos científicos e biotecnológicos que têm suscitado importantes discussões sobre bioética, segurança alimentar e equilíbrio ecológico que infelizmente fogem ao escopo deste capítulo.

CRITÉRIOS DE ESSENCIALIDADE

A poderosa teoria da força vital do húmus perdurou ainda por três décadas após a publicação do tratado de Saussure, sendo abandonada somente após a compilação científica feita por von Liebig. A partir de então, o processo de transformação dos elementos presentes nos minerais e na matéria orgânica do solo para a forma de íons inorgânicos passou a ser amplamente reconhecido como a principal fonte dos nutrientes essenciais às plantas. Esta noção também ajudou a pôr fim à acirrada discussão vigente na época

sobre a natureza dos elementos essenciais, se orgânica (como teorizado por Boussingault) ou inorgânica (como defendido por von Liebig). O estabelecimento dos procedimentos básicos da experimentação em nutrição mineral proveu evidências contundentes sobre a natureza inorgânica dos elementos essenciais e possibilitou a identificação da composição básica dos fertilizantes 'NPK'. Estes primeiros elementos foram identificados como nutrientes essenciais em ensaios onde sais solúveis de cada elemento eram fornecidos às plantas em concentrações crescentes, seguindo-se medidas de crescimento e produtividade; ou ainda, quando se excluía um destes sais de um meio de cultivo composto e observavam-se os sintomas desta carência. Tais experimentos seminais fundamentaram a Lei do Mínimo, a qual, na sua versão original enunciada por Sprengel, prevê que o crescimento de uma planta cessa se um dos elementos essenciais estiver abaixo da quantidade exigida pela natureza da espécie; ou na versão mais agrônômica desenvolvida por Liebig: "O limite de produtividade é estabelecido pelo nível do elemento cuja carência é manifestada

primeiro". Atualmente a Lei do Mínimo é meritariamente creditada a ambos, Sprengel e Liebig.

Tal princípio impulsionou o desenvolvimento das primeiras soluções nutritivas consideradas completas, dada sua efetividade no cultivo controlado de plantas (Arnon & Stout, 1939; Hoagland & Arnon, 1950). A formulação cada vez mais precisa destas soluções decorreu do aperfeiçoamento das técnicas de remoção de contaminantes das soluções nutritivas e tornou possível a classificação de cada nutriente de acordo com os critérios de essencialidade estabelecidos. Desde então, são considerados elementos essenciais aqueles: (i) cuja deficiência impede que a planta complete o seu ciclo de vida, (ii) que não podem ser substituídos por outro com características químicas similares, e (iii) que participam diretamente do metabolismo da planta. Atualmente existe uma ampla concordância sobre quais são os nutrientes essenciais (Tabela 2.1), mas ainda perdura a controvérsia sobre a inclusão ou não de elementos adicionais neste seletorol.

TABELA 2.1
Elementos essenciais às plantas (Adaptada de Dechem & Nachtigall, 2006.)

Elemento	Classificação	Demonstração da essencialidade	Concentração média (g kg ⁻¹)	Absorção
Carbono (C)	MACRONUTRIENTES	de Saussure, 1804	450	CO ₂
Oxigênio (O)		de Saussure, 1804	450	O ₂
Hidrogênio (H)		de Saussure, 1804	60	HCO ₃ ⁻ , H ₂ O
Nitrogênio (N)		de Saussure, 1804	15	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺ , N ₂
Potássio (K)		Sachs & Knop, 1860; 1865	10	K ⁺
Cálcio (Ca)		Sachs & Knop, 1860; 1865	5	Ca ⁺²
Fósforo (P)		Ville, 1860	2	Fosfatos (H ₃ PO ₄ , H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻)
Magnésio (Mg)		Sachs & Knop, 1860; 1865	2	Mg ⁺²
Enxofre (S)		Sachs & Knop, 1860; 1865	1	SO ₄ ²⁻ , SO ₂
Cloro (Cl)		MICRONUTRIENTES	Broyer <i>et al.</i> , 1954	100
Manganês (Mn)	Mazé, 1915		50	Íons ou quelatos
Boro (B)	Warington, 1923		20	Ácido bórico ou boratos
Zinco (Zn)	Sommer & Lipman, 1926		20	Íons ou quelatos
Ferro (Fe)	Sachs & Knop, 1860; 1865		10	Íons ou quelatos
Níquel (Ni)	Brown <i>et al.</i> , 1987		3	Íons ou quelatos
Cobre (Cu)	Lipman & McKinney, 1931		6	Íons ou quelatos
Molibdênio (Mo)	Arnon & Stout, 1938b		0,1	Íons ou quelatos

Tal controvérsia gerou uma nova classificação para abrigar elementos que parecem ser essenciais apenas para um número limitado de espécies, tais como o sódio (Na) para plantas halófitas (espécies com adaptação evolutiva a ambientes salinos) e o silício (Si) para gramíneas como o arroz e a cana-de-açúcar, por exemplo. E para diferenciá-los dos nutrientes considerados essenciais a todas as espécies, estes foram classificados como benéficos. Alguns elementos benéficos podem, dada à similaridade de raio atômico e/ou carga iônica, substituir um elemento essencial em situações específicas. Isto ocorre, por exemplo, com os íons Na^+ que podem ser transportados por alguns canais e transportadores de K^+ e ligar em enzimas que possuem sítios ligantes deste cátion monovalente. Todavia, a substituição de um elemento essencial por outro similar sempre leva a danos metabólicos, os quais no caso da substituição do K^+ pelo Na^+ constituem a base do estresse salino. Existe ainda o caso de alguns metais tradicionalmente considerados tóxicos, mas para os quais também se têm acumulado evidências de essencialidade ou benefício às plantas. O Ni, por exemplo, foi o elemento mais recentemente incorporado ao rol dos nutrientes essenciais (Brown *et al.*, 1987), com a elucidação, ocorrida na década de 1970, da participação deste elemento na enzima urease, enzima responsável pela hidrólise da uréia, gerando NH_4^+ e CO_2 . Esta metaloenzima dependente de Ni é fundamental para a planta poder usar a uréia (endógena ou exógena) como fonte de nitrogênio. E como desprezar a importância do Al para as plantas evolutivamente adaptadas aos solos ácidos, como algumas espécies nativas do cerrado brasileiro que acumulam concentrações extremamente elevadas deste metal em seus tecidos? Dados recentes demonstram que mesmo para plantas cultivadas, usualmente consideradas susceptíveis ao estresse por Al, verifica-se estímulo do crescimento vegetal em concentrações subtóxicas deste metal, que é o terceiro elemento mais abundante da crosta terrestre (Malkanthi *et al.*, 1995). Assim, é possível que as bases do benefício ou essencialidade de outros elementos surjam com o advento das novas tecnologias cada vez mais sensíveis no estudo do desenvolvimento vegetal e com a descrição de novas enzimas e rotas metabólicas que se escondem no conjunto de genes ainda de função desconhecida, recém-descobertos nos genomas de plantas já seqüenciados.

Classicamente, os nutrientes têm sido classificados de acordo com a quantidade exigida pelas plantas. Os macronutrientes são os exigidos em grandes quantidades (N, P, K, Ca, Mg e S) e os micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo e Ni) são requeridos em quantidades diminutas. Em função de sua concentração no solo os nutrientes podem ainda ser classificados como macroelementos, cuja concentração é maior do que 10^{-6} mol L^{-1} e microelementos, cuja concentração é menor do que 10^{-6} mol L^{-1} . Dessa forma o P é considerado um macronutriente por ser requerido em grande quantidade pela planta e um microelemento por sua baixa concentração na solução do solo, enquanto o Fe é um micronutriente e um microelemento.

Do ponto de vista fisiológico, outra classificação tem sido proposta por Mengel & Kirkby (2001), os quais agruparam os nutrientes em quatro grupos. O primeiro grupo formado por C, O, H, N e S, os maiores constituintes dos compostos orgânicos.

O segundo grupo formado por P e B, que podem esterificar grupamentos OH e participar do metabolismo energético da planta. O terceiro grupo seria formado pelos cátions K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} e Mn^{++} e pelo ânion Cl^- , os quais exercem papel importante na regulação osmótica, sinalização celular, balanceamento de cargas e manutenção do potencial elétrico das membranas. O quarto grupo seria constituído pelos metais Fe, Cu, Zn, Mo e Ni, os quais são absorvidos, principalmente, na forma de quelatos e incorporados em grupos prostéticos de enzimas e/ou em núcleos tetrapirrólicos de citocromos, onde participam do transporte de elétrons pela troca de valência. Uma discussão mais específica sobre o papel dos nutrientes na planta é retomada mais adiante. Segue-se a apresentação de alguns elementos da relação solo-planta, necessária para a compreensão do comportamento dos íons em solução, seu equilíbrio dinâmico com as partículas do solo e sua eventual absorção pelas plantas.

ELEMENTOS DA RELAÇÃO SOLO-PLANTA

Em ambientes naturais as plantas retiram a maior parte dos íons necessários para o seu crescimento da solução do solo. As reações geológicas de decomposição das rochas, chamadas genericamente de intemperismo, têm como produto o próprio solo e a liberação de íons que se difundem na água intersticial. Os minerais primários, os que resultam diretamente do material originário da ação do intemperismo, continuam a se decompor quimicamente e dão origem aos minerais secundários e às formas iônicas que podem ser absorvidas e utilizadas pelas plantas e outros organismos. Os minerais mais comuns nos solos e o resumo das principais transformações na mineralogia da fração argila do solo são apresentados na Tabela 2.2.

Tais transformações são conhecidas como estágios de intemperismo de Jackson & Sherman (1953) e classificados em três níveis: inicial, intermediário e avançado. O estágio inicial é reconhecido pela importância de sulfatos, carbonatos e silicatos primários (exceto quartzo e muscovita) na fração argila do solo. Esses minerais persistem no solo somente em condições de extremos de secura, umidade ou de baixas temperaturas, isto é, quando são bloqueados os intercâmbios de água, energia térmica e ar, que caracterizam os sistemas abertos na natureza. O estágio intermediário de intemperismo apresenta o quartzo, a muscovita e aluminossilicatos secundários como minerais proeminentes na fração argila. Tais minerais persistem em condições moderadas de lixiviação (fluxo hídrico de arrasto da solução do solo), que não exaurem a sílica e os macroelementos e que não resultam na oxidação completa do ferro ferroso [Fe^{2+}], incorporado nas ilitas e esmectitas. O estágio avançado de intemperismo, por outro lado, encontra-se associado a lixiviação intensa e fortes condições de oxidação, de modo que somente oxi-hidróxidos de alumínio, de ferro-férrico [Fe(III)] e titânio persistem.

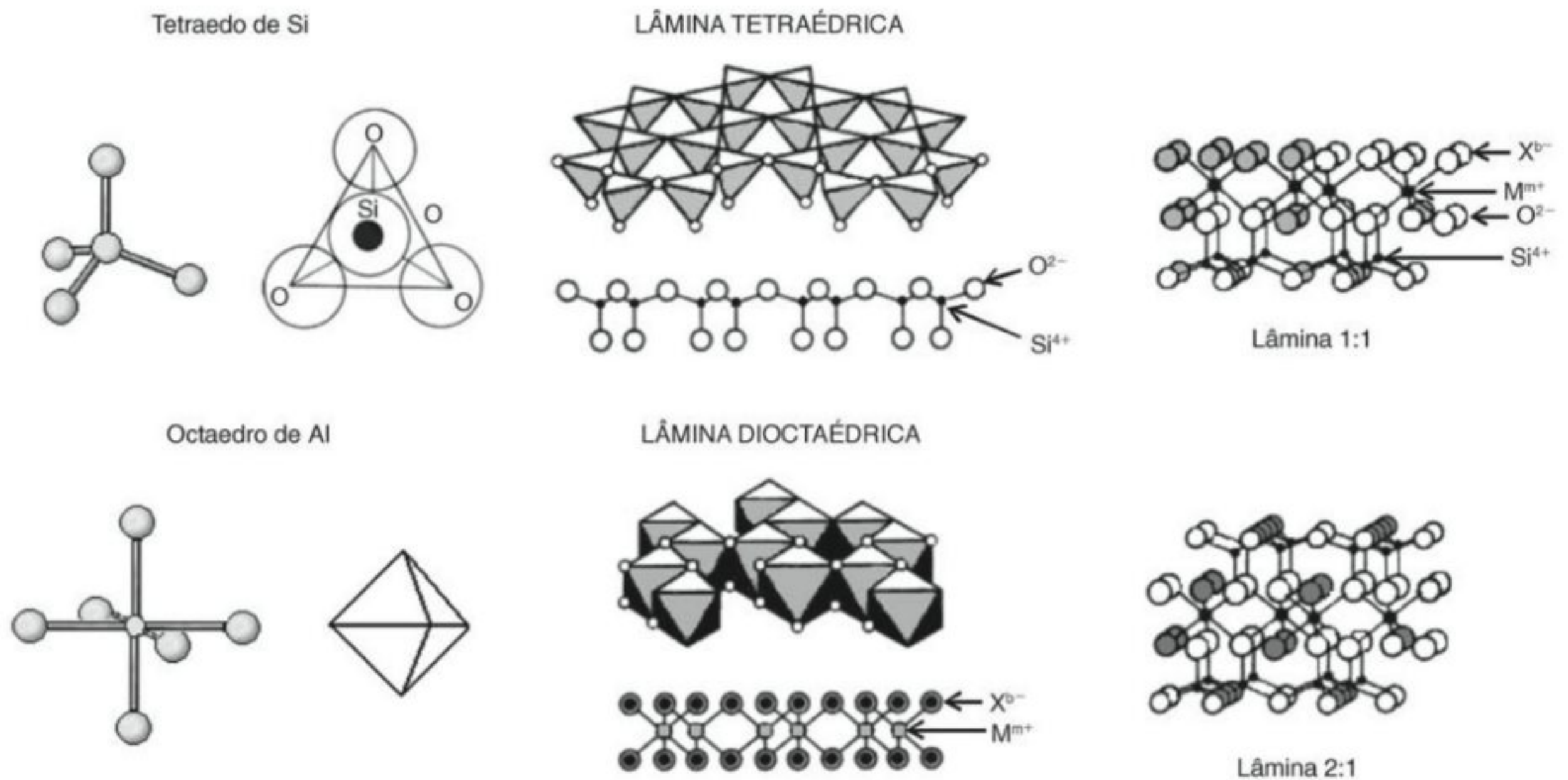
Os nutrientes minerais são íons resultantes da progressiva hidrólise destes minerais compostos, que se não são rapidamente absorvidos pelas plantas e microrganismos do solo podem sofrer

TABELA 2.2
Minerais mais comuns no solo

Nome	Classificação	Fórmula química	Importância
Calcita	MINERAIS PRIMÁRIOS	CaCO_3	Carbonato mais abundante
Gesso		$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Abundante em regiões áridas
Olivina		$(\text{Mg,Fe})_2\text{SiO}_4$	Facilmente intemperizável
Mica		$\text{K}_2\text{Al}_2\text{O}_5[\text{Si}_2\text{O}_5]_3\text{Al}_4(\text{OH})_4$	Fonte de K na maioria dos solos temperados
		$\text{K}_2\text{Al}_2\text{O}_5[\text{Si}_2\text{O}_5]_3(\text{Mg,Fe})_6(\text{OH})_4$	
Feldspato		$(\text{Na,K})\text{AlO}_2[\text{SiO}_2]_3$	Abundante em solos se não lixiviado
		$\text{CaAl}_2\text{O}_4[\text{SiO}_2]_2$	
Zircão		ZrSiO_4	Altamente resistentes ao intemperismo; usados como "minerais índice" em estudos pedológicos
Rutilo		TiO_2	
Epidoto		$\text{Ca}_2(\text{Al,Fe})_3(\text{OH})\text{Si}_3\text{O}_{12}$	
Turmalina		$\text{NaMg}_3\text{Al}_6\text{B}_3\text{Si}_6\text{O}_{27}(\text{OH,F})_4$	
Birnessita		$(\text{Na,Ca})\text{Mn}_7\text{O}_{14} \cdot 2,8\text{H}_2\text{O}$	
Esmectita	MINERAIS SECUNDÁRIOS (ARGILAS SILICATADAS)	$\text{M}_x(\text{Si,Al})_8(\text{Al,Fe,Mg})_4\text{O}_{20}(\text{OH})_4$ onde M = cátion na intercâmara	Fontes de cátions trocáveis no solo
Vermiculita			
Clorita			
Caolinita			
Alofana	MINERAIS SECUNDÁRIOS ("ÓXIDOS")	$\text{Si}_3\text{Al}_4\text{O}_{12} \cdot n\text{H}_2\text{O}$	Abundantes em solos derivados de cinzas vulcânicas
Imogolita		$\text{Si}_2\text{Al}_4\text{O}_{10} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	
Gibbsita		$\text{Al}(\text{OH})_3$	Abundante em solos lixiviados
Goethita		$\text{FeO}(\text{OH})$	Óxido de Fe mais abundante
Hematita		Fe_2O_3	Abundante em regiões quentes
Ferridrita		$\text{Fe}_{10}\text{O}_{15} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Abundante em horizontes orgânicos

lixiviação, sendo removidos do solo pela percolação da água da chuva. Entretanto, porções significativas destes íons ficam retidas na superfície das partículas das argilas, um processo amplamente reconhecido como de importância fundamental para sustentação da vida no planeta. Solos em estágio inicial de intemperismo apresentam uma grande quantidade de nutrientes ainda retidos nos minerais primários e na solução do solo, enquanto no estágio avançado a concentração de nutrientes é pequena em solução, estando mais associados às cargas das superfícies dos minerais da fração argila.

As argilas do tipo 2:1 apresentam dois planos de tetraedros de silício e um plano de octaedros de alumínio entre as camadas tetraédricas. Na formação das argilas tipo 2:1 é comum a substituição de um íon de raio semelhante por outro de menor valência (Fig. 2.1). Esse fenômeno gera uma carga estrutural negativa no mineral e é conhecido como substituição isomórfica. Essa carga líquida negativa é responsável pela retenção dos íons positivos (cátions) na superfície do mineral e, portanto, previne as perdas de íons por lixiviação. Nos minerais de argila do tipo 1:1 ocorre desgaste, pelo intemperismo, de uma lâmina de tetrae-

**FIGURA 2.1**

Representação esquemática dos tetraedros de silício e octaedros de alumínio e as respectivas organizações em lâminas tetraédricas e octaédricas. Os minerais de argila do tipo 1:1 são constituídos de uma lâmina de tetraedros de Si e uma lâmina de octaedros de Al. Os minerais do tipo 2:1 são constituídos por duas lâminas tetraédricas de Si intercaladas por uma lâmina de octaedros de Al.

droso ficando o mineral formado por uma lâmina de tetraedros de silício e uma lâmina de octaedros de alumínio (Fig. 2.1). Nesses minerais e nos óxidos, hidróxidos e oxi-hidróxidos (reunidos com a denominação genérica de “óxidos”) de ferro e alumínio, o fenômeno da substituição isomórfica é desprezível e a carga desses minerais é devida à presença de grupos oxidrilas nos bordos dos minerais expostos à solução do solo. De acordo com a reação do solo, esses grupamentos funcionais de superfície projetados à solução do solo podem ser protonados ou desprotonados, assumindo carga positiva ou negativa, respectivamente, em função do pH da solução. Essas cargas são, portanto, dependentes do pH da solução do solo, o qual varia drasticamente na rizosfera, a área de solo mais adjacente à raiz e que está sob forte influência da planta, como detalhado posteriormente. Os nutrientes catiônicos retidos nos colóides do solo podem ser substituídos por outros cátions presentes em solução. As partículas do solo, em geral, possuem carga líquida negativa, sendo capazes de reter íons positivos e permutá-los por quantidades estequiométricas equivalentes de outros cátions (Fig. 2.2).

Em meio fortemente ácido os grupamentos funcionais inorgânicos assumem carga positiva, ficando a superfície com capacidade de retenção de ânions e em meio moderadamente ácido ou alcalino a superfície adquire carga líquida negativa, dotando-a de capacidade de retenção de cátions. A capacidade de troca catiônica (CTC) pode ser definida então como a quantidade de moles de carga positiva capaz de ser retida por unidade de massa das argilas. As argilas do tipo 2:1, por apresentarem carga estrutural permanente mais as cargas de superfície dependentes

de pH, apresentam CTC maior do que as argilas do tipo 1:1 e óxidos, que ao se encontrarem no final da série de intemperismo apresentam CTC muito baixa. Nesses solos a maior parte das cargas em suas partículas é gerada pela dissociação dos grupamentos funcionais presentes na matéria orgânica.

A matéria orgânica do solo é o produto do conjunto dos resíduos de plantas, animais e microrganismos que se acumulam na camada superficial do solo, passando por vários estágios de decomposição. Nos solos bem intemperizados e sem problemas de drenagem, os resíduos orgânicos são transformados pela ação da microbiota até a matéria orgânica coloidal e amorfa que compreende as substâncias húmicas, nome que define genericamente os produtos da transformação do material orgânico no solo. A matéria orgânica apresenta de 100 a 1.000 vezes mais carga negativa que a parte mineral, mas sua carga líquida é influenciada pelo pH do solo, o qual, por sua vez, é influenciado pela força tamponante exercida pela matéria orgânica (Fig. 2.2). Para os solos mais intemperizados, as substâncias húmicas representam a maior fonte de cargas negativas, pois devido ao grau elevado de decomposição dos minerais, os metais alcalinos terrosos são lixiviados, ficando como remanescentes óxidos de ferro e de alumínio quase sem cargas. Nesta condição a matéria orgânica é que condiciona a CTC pela dissociação dos grupos COOH e OH, determinando a carga líquida da interface entre os meios sólido e aquoso do solo. Se a fase aquosa tornar-se muito ácida, a carga líquida da interface tornar-se-á positiva. Porém, na matéria orgânica existem grupos ácidos suficientes para garantir a CTC mesmo em pHs entre 4 e 5, comuns aos solos ácidos.

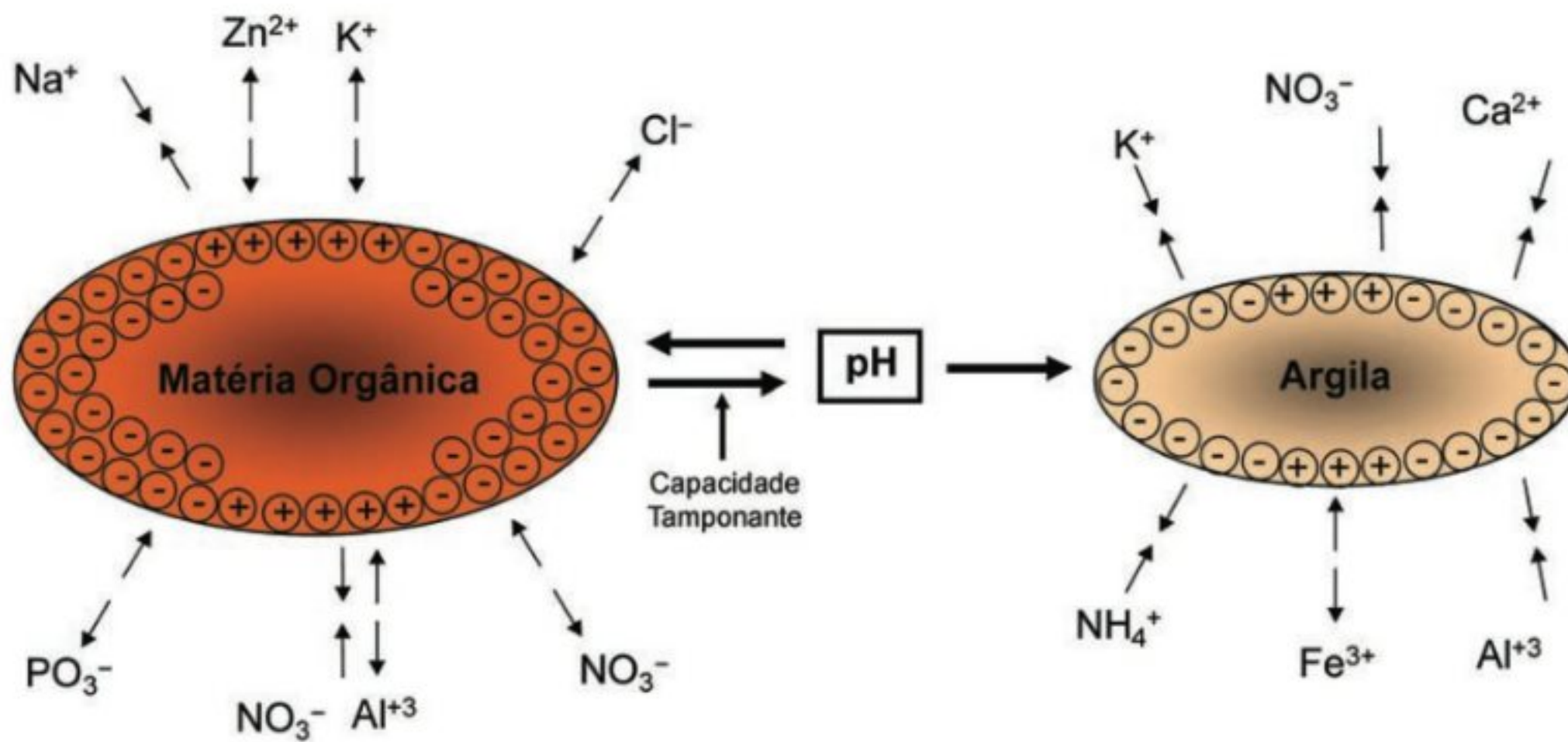


FIGURA 2.2

Distribuição esquemática de cargas nas partículas do solo. Tanto a fração orgânica quanto a fração mineral possuem mais cargas negativas que positivas. Entretanto, a fração orgânica possui carga líquida mais negativa do que a fração mineral e a primeira também possui capacidade tamponante, importante para o controle do pH da solução do solo. Íons com carga semelhante à carga presente numa dada região da partícula são repelidos, enquanto íons com cargas opostas são atraídos, ficando adsorvidos na partícula. Este balanço de cargas assim como a associação e dissociação dos íons depende do pH do solo.

Substâncias húmicas constituem ainda a principal fonte de íons oriunda da oxidação enzimática de compostos orgânicos que gera produtos, tais como os íons NO_3^- , SO_4^{2-} , H_2PO_4^- . A biodiversidade e a exuberância da vegetação das Matas Atlântica e Amazônica são sustentadas pela eficiência no processo de decomposição dos resíduos orgânicos e assimilação desses produtos, uma vez que essas formações, na sua maior parte, encontram-se sob solos altamente intemperizados com predominância de argilas do tipo 1:1 e óxidos na sua composição mineralógica e, portanto, apresentam baixa CTC. A simplificação dos sistemas naturais para adoção de monoculturas quebra o equilíbrio dos processos de transformação da matéria orgânica, resultando, via de regra, na queda de conteúdo e qualidade da matéria orgânica e necessidade de intervenção constante e crescente para manutenção dos níveis de produtividade.

O crescimento das plantas em função da quantidade de nutrientes aplicados ao solo apresenta geralmente um padrão bastante comum. A curva preta da Fig. 2.3 mostra um comportamento típico de quantidade de adubo inorgânico aplicado *versus* sua resposta em termos de crescimento. Nota-se um aumento crescente na produção com o incremento da dose aplicada até um determinado ponto a partir do qual é observado declínio da produção. Com a aplicação de matéria orgânica (curva vermelha, Fig. 2.3) o crescimento é estimulado e geralmente não é observado declínio da produção mesmo em quantidades elevadas. Um comportamento intermediário se verifica com a aplicação de fertilizantes orgânicos solúveis (curva verde, Fig. 2.3). Os efeitos adicionais observados pela matéria orgânica são geralmente descritos como decorrentes do aumento da solubilidade de complexos orgânicos formados principalmente com micronu-

trientes. Porém, tal desempenho também deve resultar da capacidade de as substâncias húmicas exercerem atividades semelhantes às de alguns fitormônios, estimulando processos bioquímicos e metabólicos essenciais à absorção de nutrientes e ao controle do crescimento da planta (Canellas *et al.*, 2006). O efeito de estabilização da curva dose-resposta é geralmente atribuído à elevada capacidade tampão da matéria orgânica, uma de suas principais características, que define a resistência que o sistema apresenta à variação do pH.

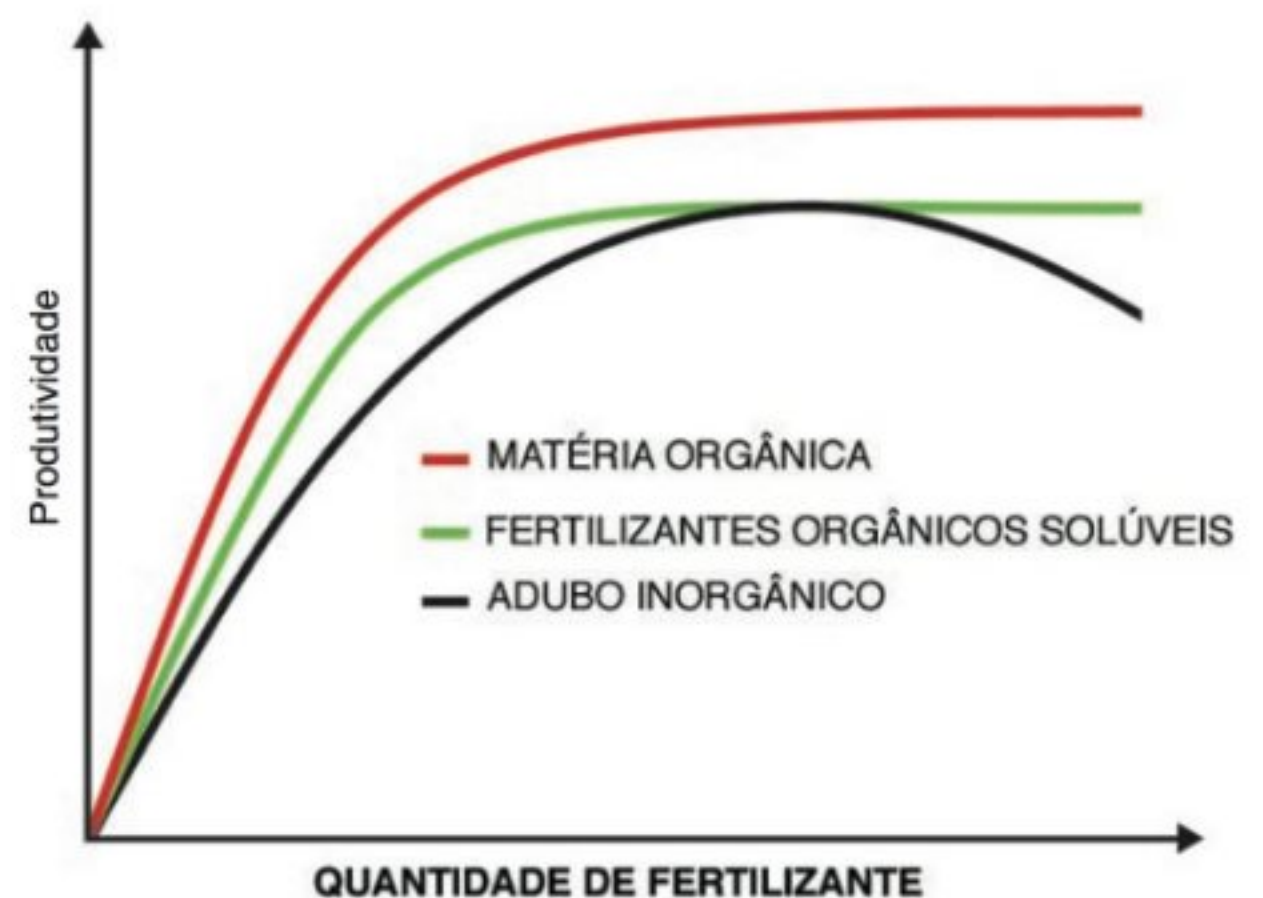
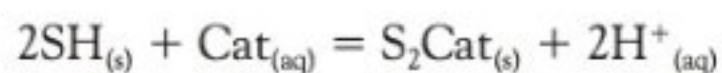


FIGURA 2.3

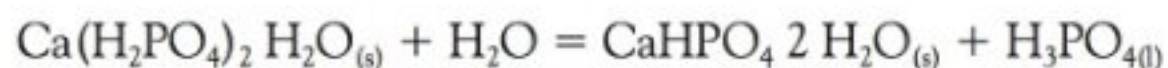
Curva genérica de eficiência da utilização de nutrientes durante a fertilização orgânica ou inorgânica.

Nos solos das regiões áridas, com precipitações pluviométricas anuais inferiores a 350 mm, a quantidade de bases trocáveis é geralmente alta devido à pouca lixiviação do solo. Nessas circunstâncias gesso, carbonatos e sulfatos se formam. Todavia, com o aumento da precipitação atinge-se um ponto onde a velocidade de remoção das bases excede a velocidade de liberação de formas não trocáveis. Assim, os solos das regiões úmidas dos trópicos apresentam-se, em geral, bastante ácidos em toda a extensão do perfil e com baixos teores de Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ e Na^+ trocáveis. Essa acidez está associada à presença de alumínio e hidrogênio trocáveis. Portanto, a distribuição de solos ácidos, salinos e alcalinos está intimamente relacionada ao clima, mas também depende dos tipos de rochas originais e dos demais elementos de formação dos solos. O aumento da concentração de prótons num sistema (acidez) acontece quando determinado processo libera ânions sem uma compensação equivalente de cátions ou, então, remove mais cátions que ânions. O balanço de carga deverá ser mantido e, no caso do déficit de carga positiva, compensado por prótons. O desenvolvimento da acidez é, portanto, um processo natural e está intimamente associado à solubilidade e à concentração dos elementos nutritivos na solução do solo. Nos solos nos quais existe uma ciclagem elevada de matéria orgânica, como solos sob florestas, as reações ácido-base da fração húmica apresentam importância capital na dinâmica do pH da solução do solo. O processo pode ser traduzido pela equação:



onde SH designa a concentração de substâncias húmicas; Cat, o cátion proveniente da dissolução de minerais; H^+ , o próton resultante da dissociação de grupamentos funcionais acídicos das substâncias húmicas.

Essa inter-relação que envolve um efeito tampão de associação e dissociação de H^+ representa um equilíbrio dinâmico que pode ser interrompido com a oxidação da matéria orgânica pelo cultivo intensivo, alterando a capacidade de tamponamento do sistema. Por exemplo, a aplicação de fosfatos solúveis produz soluções altamente concentradas de P em torno do grânulo de fertilizante. Dependendo da natureza do fertilizante, essa concentração de P pode variar desde $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ (KH_2PO_4) até 6 mol L^{-1} (K_2HPO_4), ao passo que a concentração do cátion acompanhante pode chegar a valores de 10 a 12 moles L^{-1} . Os valores de pH dessas soluções podem variar de 1 a 10. No caso de superfosfatos, os seguintes eventos acontecem:



A reação de protólise é bastante complexa e pode continuar até a formação de fosfato dicálcico anidro (CaHPO_4). A solução emergindo do grânulo apresenta pH entre 1 e 1,5 e concentração de cálcio em torno de $1,5 \text{ mol L}^{-1}$. Esse novo ambiente químico provoca, conseqüentemente, a dissolução de constituintes do solo, colocando em solução quantidades apreciáveis de cátions, principalmente ferro e alumínio (em solos ácidos), resultantes de troca iônica, de dissolução de oxi-hidróxidos e/ou argilas silicatadas. A concentração iônica dessa solução vai aumentando com o movimento da mesma, através do solo, até um ponto onde os limites do produto de solubilidade de uma variedade de compostos de P são ultrapas-

sados, causando a conseqüente precipitação destes. Essas reações acontecem numa faixa de poucos milímetros do lugar de aplicação do grânulo, decrescendo de intensidade com o aumento da distância do mesmo. Em algum ponto desse sistema as reações de dissolução e de precipitação decrescem de intensidade e a adsorção passa a assumir maior importância. As reações de adsorção envolvem ligações químicas (troca de ligantes) de P com a superfície dos minerais do solo, principalmente os oxi-hidróxidos de ferro e alumínio. Tais reações de adsorção desempenham papel importante na retenção de P, mesmo naquelas regiões concentradas, onde ocorrem precipitação/dissolução. A fixação ou retenção de P é, geralmente, entendida como a transformação de formas solúveis de P para formas de solubilidade reduzida e, portanto, de menor disponibilidade para as plantas. Os solos ácidos, particularmente os situados nas regiões de clima tropical e subtropical, onde predominam Latossolos e Argissolos, ambos com teores elevados de oxi-hidróxidos de ferro e alumínio e, também, de caulinita, fixam elevadas quantidades de P ($300\text{-}700 \text{ mg P kg}^{-1}$). A matéria orgânica exerce poder atenuante nas flutuações de pH e na diminuição da energia de ligação do P nas superfícies minerais.

A maior parte do nitrogênio (N) encontrado no solo está em moléculas orgânicas, uma vez que há poucos minerais contendo N. As formas orgânicas de N constituem um grupo complexo de compostos que precisam ser mineralizados até NO_3^- ou NH_4^+ por microrganismos para que sejam assimilados pelas plantas. A principal entrada de N no sistema solo é pela decomposição dos resíduos orgânicos, e por isso sua dinâmica acompanha a dinâmica da matéria orgânica no solo. Outro importante processo consiste na fixação do N_2 atmosférico por bactérias diazotróficas, para o qual um capítulo inteiro é dedicado. Por fim, o potássio (K) é o elemento de ciclo mais simples nos sistemas naturais, que resumidamente compreende sua liberação dos minerais primários e secundários especialmente pelas reações de hidrólise. Em solução o íon K^+ pode ser absorvido, retido pelas cargas negativas das argilas ou ainda ser lixiviado com a água de percolação.

As plantas desenvolveram um intrincado mecanismo para se adaptar às dramáticas flutuações de composição da solução do solo que ocorrem naturalmente pelo movimento das águas, reações de intemperismo, decomposição da matéria orgânica e atividade biológica. O volume do solo afetado pela presença das raízes, a rizosfera, possui sua composição determinada pela exsudação de substâncias cuja identidade bioquímica depende tanto de fatores endógenos inerentes à espécie/cultivar ou à idade da planta como das condições ambientais. A composição da solução da rizosfera, portanto, difere da solução do solo, e os sistemas de transporte de membranas das células radiculares exercem um papel fundamental nessa dinâmica.

SISTEMAS DE TRANSPORTE DE NUTRIENTES DAS CÉLULAS DE PLANTAS

O transporte de nutrientes através das membranas celulares é um processo extremamente dinâmico e multifatorial cuja

compreensão depende primariamente do conhecimento das propriedades físico-químicas e bioquímicas das moléculas transportadas, da própria membrana e de suas proteínas transportadoras. Uma vez fixado este conhecimento, serão consideradas as várias relações de estrutura e função existentes entre os componentes do sistema de transporte transmembranar e os vários fatores endógenos e exógenos que influenciam a expressão e o funcionamento destes componentes.

A polaridade, o tamanho da molécula e a presença de cargas são fatores importantes para entender os seus mecanismos de transporte, translocação e acumulação nas plantas. Moléculas de pequeno diâmetro apolares como O_2 ou polares como CO_2 e H_2O podem atravessar as membranas celulares por difusão simples (Fig. 2.4). Entretanto, a maioria dos nutrientes essenciais derivados do solo torna-se disponível na solução intersticial sob a forma iônica. Para estas moléculas polares, eletricamente carregadas, a dupla camada de ácidos graxos apolares que compõe o interior da matriz lipídica das membranas impõe uma forte barreira termodinâmica à difusão simples. Por isso, o transporte destes íons e de outras moléculas polares maiores (como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e até alguns fitormônios) é mediado por proteínas integrais que possuem um canal interno hidrofílico, o qual atravessa a barreira hidrofóbica da membrana (Fig. 2.4). Tais proteínas transportadoras, em geral, apresentam especificidade e afinidade definidas, ou seja, são seletivas para determinado íon ou molécula, cujo transporte depende não só da concentração em que estes se encontram no meio, mas também do seu diâmetro molecular, densidade de carga e de sua camada de solvatação.

Estes sistemas de transporte conferem às membranas sua permeabilidade seletiva, propriedade funcional que permite a regulação quantitativa, qualitativa e direcional do transporte de nutrientes e outras substâncias através da membrana plasmática (plasmalema), da membrana vacuolar (tonoplasto) e demais endomembranas que delimitam as organelas intracelulares. Existem transportadores específicos até mesmo para o transporte da água, a qual é requerida em quantidades que superam em muito a sua difusibilidade na membrana, sendo transportada através de proteínas canais denominadas aquaporinas (Fig. 2.4; ver também o Cap. 1, Relações Hídricas), as quais aumentam em milhares de vezes o fluxo transmembranar da molécula H_2O .

As proteínas transportadoras das membranas biológicas são agrupadas em três classes principais: *canais*, *carreadores* e *bombas*. Os canais são proteínas que possuem sítios de reconhecimento e translocação para íons específicos, os quais funcionam como poros de abertura controlada que atravessam as membranas. Em geral as proteínas canais funcionam oscilando basicamente entre dois estados conformacionais, um aberto e outro fechado. Quando aberta, uma proteína canal possibilita o transporte passivo de um grande número de moléculas, consistindo no sistema de transporte mais veloz das membranas ($\sim 10^8$ íons por segundo). As proteínas canais mais importantes para a nutrição mineral são os canais iônicos específicos que transportam nutrientes catiônicos ou aniônicos. Tal velocidade só é possível porque os canais realizam transporte passivo, a favor de um gradiente de concentração, sendo o fluxo de massa a força motriz que impele as moléculas

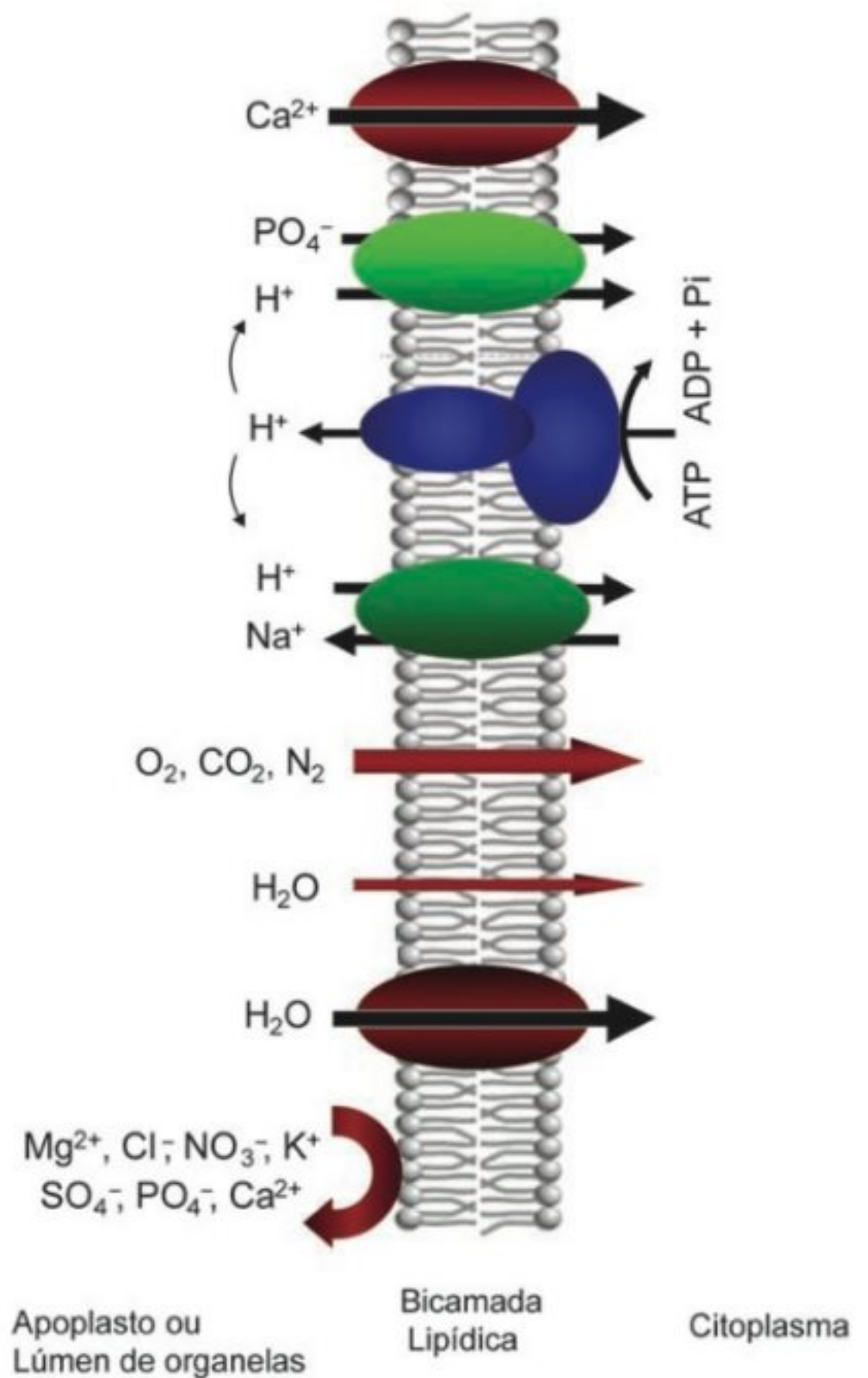


FIGURA 2.4

Esquema representativo do transporte de nutrientes através da bicamada lipídica de membranas celulares. As estruturas em cor vinho representam canais (um canal de cálcio acima e uma aquaporina abaixo). As estruturas em verde são carreadores do tipo simporte e antiporte. Em azul está representada a bomba de prótons da membrana plasmática. As setas vermelhas indicam a capacidade de difusão simples através da bicamada lipídica dos gases O_2 , CO_2 e N_2 , e da água, bem como a impossibilidade de ocorrer o mesmo com os nutrientes iônicos, os quais dependem de proteínas de transporte específicas.

através do canal, sem que haja comprometimento de mudanças conformacionais complexas. Como a maioria dos nutrientes se encontra em concentrações muito inferiores nos solos em relação à sua concentração citoplasmática, é de esperar que canais não sejam os sistemas preponderantes na captação destes nutrientes. De fato, grande parte dos sistemas de transporte das membranas das células epidérmicas radiculares são carreadores que realizam transporte ativo, ou seja, envolvendo gasto de energia. Todavia, vários canais estão presentes nas endomembranas destas células e nas membranas de células que compõem os tecidos internos da planta, onde os nutrientes já se encontram em concentrações que possibilitam o transporte passivo. Porém, mesmo nas células

epidérmicas, principalmente nos pêlos radiculares (células epidérmicas absorptivas, que sofrem crescimento polarizado) encontram-se canais específicos que utilizam o potencial elétrico da membrana para realizar o transporte de cátions importantes como o Ca^{+2} e o K^{+} . A membrana plasmática das células vegetais sempre se mantém polarizada, com a face interna negativa e a externa positiva, o que favorece termodinamicamente a difusão facilitada de cátions através de proteínas canais. É importante salientar que no transporte de substâncias carregadas eletricamente, o equilíbrio termodinâmico é atingido não quando as concentrações do elemento se equiparam em ambos os lados da membrana, mas quando há o equilíbrio entre os potenciais químicos (efeito da concentração do íon) e elétrico (efeito da carga específica do íon).

As proteínas carreadoras são transportadores que podem mediar tanto o transporte ativo quanto o passivo através das membranas. Os carreadores reconhecem e ligam um soluto (molécula ou íon) em um lado da membrana e sofrem uma série de modificações conformacionais, liberando-o no outro lado da membrana, aumentando a sua permeabilidade na matriz lipídica num fator de 10^2 a 10^6 vezes. Porém, tais mudanças conformacionais comprometem a velocidade do transporte, que é da ordem de 10^5 íons por segundo, ou seja, cerca de 1.000 vezes inferior à de um canal. Entretanto, diferente dos canais, os carreadores podem utilizar a energia acumulada no gradiente eletroquímico estabelecido na membrana para realizar o transporte ativo de nutrientes que se encontram em concentrações diminutas no solo. Por isso, estes são os principais sistemas diretamente responsáveis pela absorção de nutrientes das células epidérmicas absorptivas da raiz.

As bombas iônicas, assim como os canais e carreadores, também são proteínas integrais transmembrana, mas se diferenciam destes por serem ativadas por energia química na forma de substratos fosfatados: adenosina 5' trifosfato (ATP) ou pirofosfato inorgânico (PP_i). Ou seja, além do sítio de ligação do íon a ser transportado, estas proteínas também possuem um sítio catalítico que liga especificamente um destes substratos fosfatados, os quais sofrem hidrólise enzimática liberando energia para o transporte ativo deste íon. Isto implica que o transporte iônico mediado por estas enzimas envolve mudanças conformacionais mais complexas do que as experimentadas por outros transportadores, e assim a velocidade de transporte usualmente é muito inferior à executada por canais e carreadores. Porém, devido à capacidade de gerar de forma independente de outros sistemas a energia necessária à sua atividade de transporte, estas bombas constituem os principais sistemas primários de transporte de íons da célula vegetal. Os carreadores que dependem dos gradientes eletroquímicos gerados por estas bombas eletrogênicas são classificados como sistemas secundários de transporte. Assim, termodinamicamente, as bombas são enzimas transportadoras responsáveis pela energização e controle do transporte de nutrientes através de todas as membranas da célula vegetal. Estudos eletrofisiológicos (principalmente análises de *patch clamp*) têm demonstrado que a importância destas bombas não se limita à energização dos sistemas secundários de transporte, mas também ao controle da

abertura e fechamento de canais sensíveis às variações do potencial de membrana.

Nas membranas plasmáticas das células de plantas encontram-se principalmente H^{+} -ATPases do tipo P, assim classificadas por assumirem uma conformação intermediária fosforilada (E_p , estado conformacional em que a enzima sofre uma fosforilação reversível). Estas bombas de prótons utilizam a energia da hidrólise do ATP para transportar íons H^{+} para o apoplasto, acidificando o espaço intercelular. Nas raízes, o funcionamento contínuo das H^{+} -ATPases das membranas plasmáticas das células epidérmicas gera um gradiente eletroquímico de íons H^{+} na membrana que é dissipado pelos carreadores do sistema de transporte secundário, os quais utilizam a entrada termodinamicamente favorável de H^{+} para transportar um outro íon contra um gradiente de concentração (Figs. 2.4 e 2.5). As H^{+} -ATPases tipo P são as proteínas mais abundantes da membrana plasmática de células da epiderme radicular, onde verifica-se também uma maior atividade destas bombas (Fig. 2.6), as quais, além de atuarem na absorção de nutrientes, também influenciam o pH do citoplasma, da parede celular e da rizosfera. Como discutido anteriormente neste capítulo, a modulação do pH da rizosfera exerce forte influência na dinâmica dos íons adsorvidos nas partículas das argilas e na liberação de nutrientes e outros fatores de crescimento presentes nas substâncias húmicas.

Outras bombas eletrogênicas extremamente importantes para o processo da nutrição da célula vegetal são as H^{+} -ATPases do tipo V e as H^{+} -PPiases presentes no tonoplasto que bombeiam H^{+} do citoplasma para dentro dos vacúolos (Fig. 2.5). A compartimentação de muitos solutos e o controle fino da concentração de nutrientes no citoplasma encontram-se primariamente acoplados à existência do gradiente de H^{+} mantido no tonoplasto por estas enzimas transportadoras.

CONTROLE DE FLUXO DOS NUTRIENTES

Quanto ao fluxo de nutrientes, os sistemas de transporte podem ser classificados em: *uniporte*, *simporte* e *antiporte*. O sistema uniporte refere-se ao transporte de um único elemento num determinado sentido, com ou sem gasto de energia. As bombas de prótons descritas anteriormente são sistemas de transporte ativo do tipo uniporte, assim como também são uniportes os canais iônicos que realizam o transporte de um íon sem gasto de energia, pois ambos os sistemas operam promovendo um fluxo unidirecional de um único elemento através das membranas.

Os dois outros sistemas referem-se ao co-transporte simultâneo de duas moléculas distintas, onde os simportes transportam dois tipos de moléculas num mesmo sentido e os antiportes transportam duas moléculas em sentidos contrários. Nas células de plantas encontra-se uma miríade de carreadores que realizam o transporte dos principais nutrientes minerais acoplados à dissipação do gradiente eletroquímico gerado pelas bombas de H^{+} . Muitos dos principais carreadores responsáveis pela captação de nutrientes são sistemas simporte H^{+} /ânion, localizados na

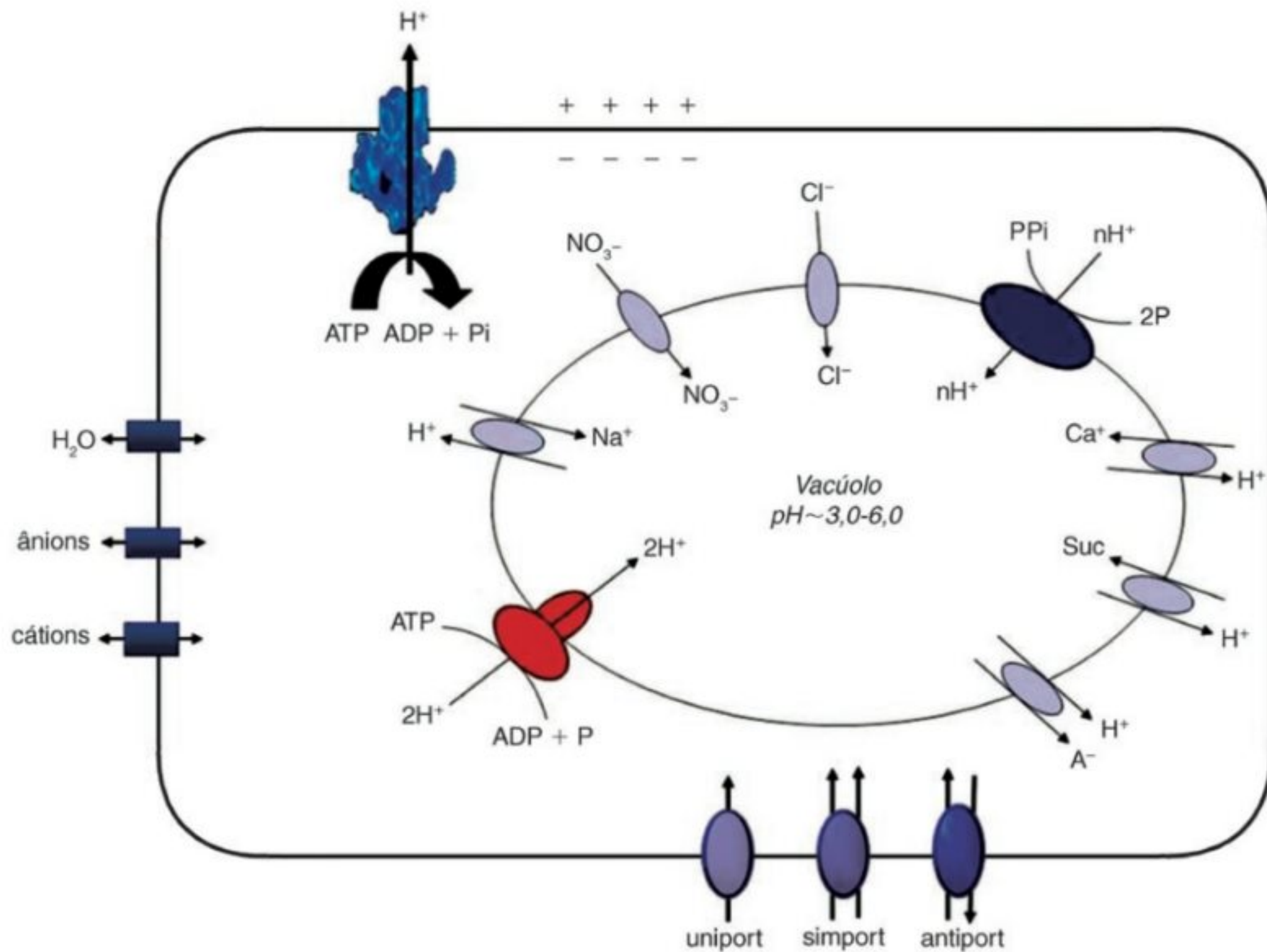


FIGURA 2.5

Esquema representativo dos principais tipos de sistemas de transporte primários e secundários presentes nas membranas plasmáticas e vacuolares de células de plantas, envolvidos no processo de absorção de nutrientes e no controle de suas concentrações intracelulares. Em destaque na membrana plasmática a H^+ -ATPase do tipo P. A estrutura em vermelho na membrana vacuolar representa a H^+ -ATPase do tipo V, e em azul-escuro está representada a H^+ -pirofosfatase vacuolar.

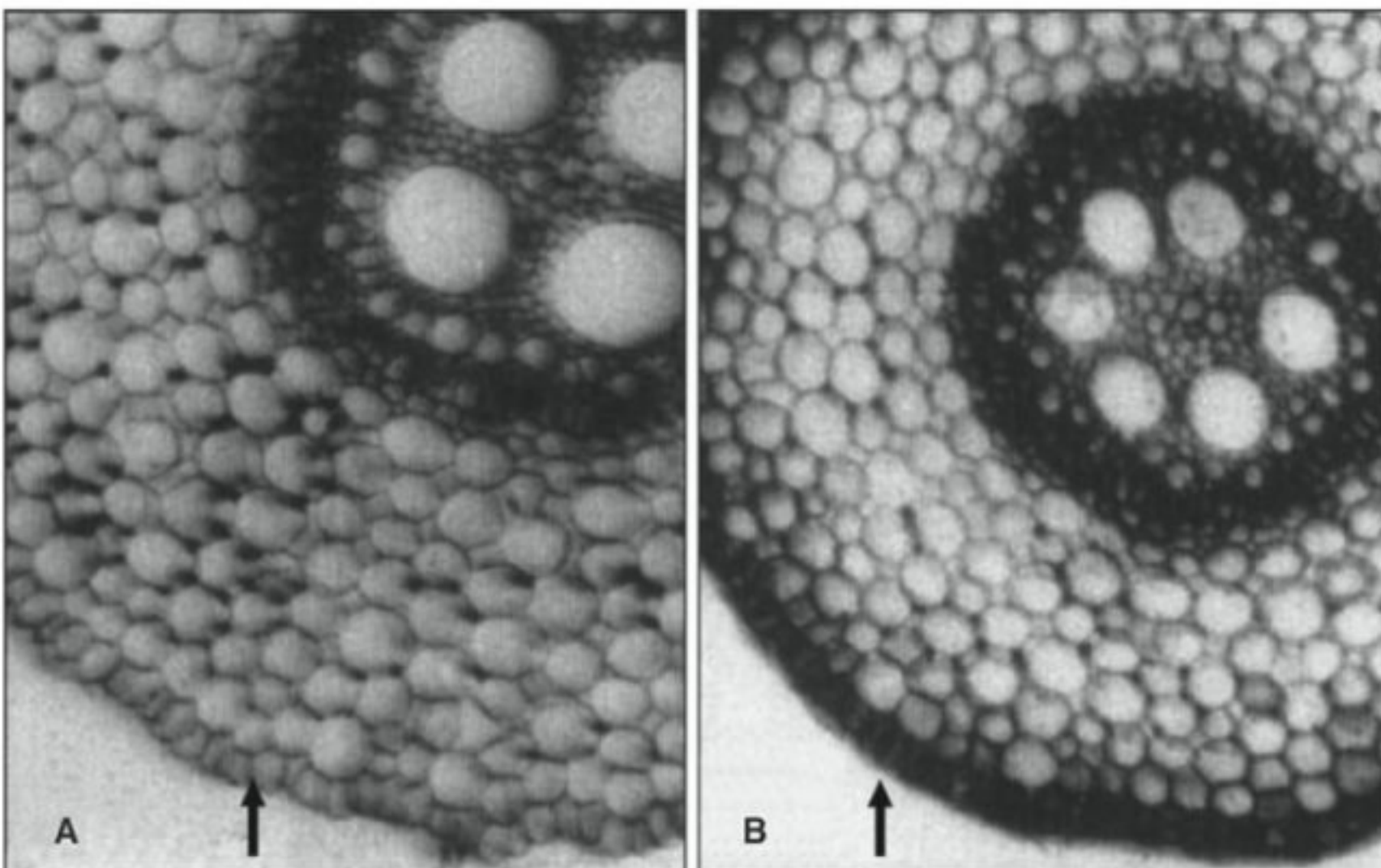


FIGURA 2.6

Ensaio histoquímico para detecção de atividade específica da H^+ -ATPase da membrana plasmática, realizada em secções transversais de raiz de milho (*Zea mays* L.). Em A, a reação foi realizada na presença de 0,1 mM de ortovanadato, um inibidor clássico das ATPases do tipo P. Em B, na ausência do inibidor verificamos o forte acúmulo de precipitado de fosfato de chumbo, que indica a preponderância da ativação da H^+ -ATPase da membrana plasmática nas células epidérmicas da raiz (indicadas pelas setas). Experimento realizado no Laboratório de Biologia Celular & Tecidual da UENF.

membrana plasmática, e que transportam prótons conjuntamente a ânions para o interior da célula. Carreadores antiporte H^+ /cátion localizados na membrana plasmática transportam prótons para o citoplasma ao mesmo tempo em que ocorre a saída de cátions para o exterior da célula. Este último processo é particularmente importante para a exclusão de íons tóxicos.

Fisiologicamente, o co-transporte de espécies iônicas é parte integrante do mecanismo de controle do potencial transmembrana, funcionando de forma acoplada ao gradiente eletroquímico gerado pelas bombas, no sentido da manutenção de um equilíbrio de cargas nos dois lados das membranas. A entrada de uma carga positiva deve ser acompanhada da saída de uma carga também positiva mantendo assim o potencial transmembrana, via antiporte H^+ /cátion. No caso de considerarmos um ânion, este pode entrar juntamente com uma carga positiva (próton) sem comprometer o equilíbrio de cargas na membrana, via simporte H^+ /ânion. Pode ocorrer também um simporte H^+ /substância não carregada eletricamente, como a sacarose (entre outros metabólitos importantes). Nestes casos, ocorre um simultâneo bombeamento de prótons para fora da célula, conservando o potencial constante. Vale ressaltar que os diferentes tipos de sistemas de transporte e seus mecanismos de ação mencionados anteriormente ocorrem simultaneamente em nível celular, interagindo entre si de forma coordenada para a absorção e translocação das diversas substâncias e não isoladamente conforme apresentado aqui somente para fins didáticos.

O transporte ativo de íons e moléculas orgânicas também está sob a regulação de fatores ambientais e endógenos. Como exemplo, podemos comentar a regulação do transporte de K^+ , o qual é o cátion mais abundante nas plantas, tendo um papel importante no alongamento celular, movimento foliar, tropismos, homeostase metabólica, germinação, osmorregulação, estresses salino e hídrico e no controle do movimento estomático. Nas células estomáticas, os canais de K^+ são controlados diretamente pela luz, pelo ácido abscísico (estresse hídrico) e por concentrações do CO_2 atmosférico. A luz e o balanço hormonal também controlam o funcionamento da isoforma da H^+ -ATPase presente nestas células. Em última instância, a ativação coordenada destes sistemas aumenta o fluxo de K^+ para o interior do vacúolo induzindo a captação de água via aquaporinas, promovendo a turgescência destas células e a abertura do estômato. Tal controle coordenado de sistemas primários e secundários de transporte iônico determina o grau de abertura dos estômatos em cada situação fisiológica ou de estresse e exerce um papel fundamental no fluxo de CO_2 para a fotossíntese, no fluxo de água na transpiração e na translocação de nutrientes pelos feixes vasculares (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

Em termos de regulação da expressão da proteína transportadora, os sistemas de absorção de íons podem ser constitutivos ou indutivos. Fazem parte do sistema de transporte constitutivo aqueles transportadores cuja expressão é contínua ao longo do ciclo de vida da planta, sendo predeterminada pelo programa de desenvolvimento de cada espécie vegetal. O sistema de transporte indutivo compreende transportadores cuja expressão é induzida seguindo sinalizações específicas, como as desencadeadas por diversas interações bióticas ou abióticas da planta com o seu ecossistema.

Os sistemas de transporte de nutrientes são geralmente modulados pela disponibilidade do íon na solução do solo, enquanto outros são sensíveis à concentração do íon no citoplasma. Estes transportadores podem ser classificados, quanto à sensibilidade ao íon a ser transportado, como transportadores de alta ou baixa afinidade. Os transportadores de alta afinidade, em geral, podem transportar íons que se encontram em concentrações mínimas, na faixa do nanomolar ao micromolar. Grande parte dos transportadores de alta afinidade está localizada nas células epidérmicas das raízes, especialmente nos pêlos radiculares. Os genes que codificam os transportadores de alta afinidade para a absorção de íons fosfato e sulfato são induzidos em resposta à deficiência de fósforo e enxofre, respectivamente. Isto consiste numa adaptação evolutiva que capacitou as plantas a aumentar seu potencial de absorção em função da baixa disponibilidade destes nutrientes no ambiente. Por outro lado, a expressão dos genes que codificam o transporte do íon NO_3^- é induzida pela presença de nitratos. Isto exemplifica um outro tipo de adaptação que também tem na nutrição as bases da pressão evolutiva que a forjou. A nutrição mineral nitrogenada depende da disponibilidade de íons NO_3^- ou NH_4^+ e o balanço destes íons oscila com o pH do solo, ou seja, espécies que desenvolveram a capacidade de indução dos transportadores específicos para cada um destes íons em resposta à sua disponibilidade sobreviveram à seleção natural.

Transportadores de baixa afinidade se expressam principalmente nas membranas plasmáticas de células dos tecidos internos e nas endomembranas, onde a concentração dos íons pode atingir a faixa micromolar/submilimolar. Como esperado, os principais transportadores de baixa afinidade caracterizados até o momento transportam macronutrientes, os quais se acumulam em altas concentrações nas plantas. A indução de transportadores de baixa afinidade também tem sido relacionada à nutrição de plantas sob influência de interações simbióticas. Por exemplo, plantas micorrizadas apresentam indução de alguns transportadores de fosfato de baixa afinidade nos tecidos internos e reprimem outros de alta afinidade nas células epidérmicas da raiz (Jovot *et al.*, 2007). Este dado é consistente com o fato de a absorção de P do solo ser realizada pelas hifas do fungo micorrízico, o qual possui seus próprios transportadores de altíssima afinidade para fosfato. Por outro lado, a maior captação de P pelas micorrizas provoca um aumento de demanda no sistema de translocação interna da planta, suprida pela indução dos transportadores de baixa afinidade. É importante ressaltar que são vários os transportadores de fosfato de alta e baixa afinidade já identificados nos diferentes genomas de plantas seqüenciados, e destes, alguns são constitutivos, outros são induzidos e outros só se expressarão especificamente em certas condições, como durante a micorrização (Jovot *et al.*, 2007).

DINÂMICA DA ABSORÇÃO DE NUTRIENTES PELAS PLANTAS

A capacidade de absorção de cada nutriente varia de acordo com o ambiente e o estágio de desenvolvimento do vegetal, e, como descrito anteriormente, sua disponibilidade é um dos principais

fatores que regulam as taxas de absorção e atividade dos diferentes sistemas de transporte. Foi verificado que a absorção de íons segue o mesmo comportamento estabelecido por Michaelis e Menten para a cinética enzimática (Epstein, 1972). Ou seja, a cinética de transporte possui duas fases: uma inicial, na qual em baixas concentrações a velocidade do transporte aumenta rapidamente a cada incremento na quantidade da molécula a ser transportada, e outra relacionada às altas concentrações, quando o transporte tende a uma velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$), sinalizando a saturação dos sítios transportadores. Tal qual na catálise enzimática, também se pode determinar a constante de Michaelis (K_m), definida pela concentração na qual se atinge a metade da velocidade máxima de transporte, e considerada como uma característica específica de cada transportador. Assim, o valor de $V_{m\acute{a}x}$ oferece uma estimativa da quantidade de proteínas transportadoras de um íon em funcionamento na membrana, enquanto K_m define qual a afinidade do sistema de transporte observado.

A absorção de nutrientes em baixas concentrações, pouco maiores que a concentração mínima requerida para o transporte ($C_{m\acute{i}n}$), requer um sistema com pequeno K_m , característica de transportadores de alta afinidade, enquanto íons disponíveis em altas concentrações usualmente são alvos de transportadores de elevado K_m (de baixa afinidade). Um exemplo já discutido anteriormente é o do íon K^+ cujo sistema de alta afinidade é atribuído ao transporte ativo via simporte, enquanto o sistema de baixa afinidade é atribuído a canais. Entretanto, é importante destacar que um mesmo transportador pode sofrer regulação por fatores endógenos ou exógenos e aumentar ou diminuir sua afinidade pelo íon específico. Isto implica que as diferenças na taxa de absorção de um nutriente podem ocorrer não só em nível transcricional (regulação dos níveis de expressão da proteína), mas também no nível pós-transcricional, quando a modulação ocorre diretamente sobre a atividade do transportador.

Dentre os principais fatores exógenos que influenciam a absorção de nutrientes pelas plantas estão: a temperatura, a umidade, a aeração, o pH, as interações iônicas e as interações simbióticas com outros organismos do solo.

Temperatura

As variações de temperatura podem afetar a permeabilidade do solo, a permeabilidade das células, a velocidade dos processos de transferência e a ocorrência de reações específicas. A alteração da permeabilidade do solo está associada basicamente a alterações das características do fluido permeante. O valor do peso específico da água pode ser considerado constante com a temperatura, enquanto a viscosidade decresce com o aumento da temperatura. O decréscimo da viscosidade implica o aumento da permeabilidade e, conseqüentemente, da velocidade de percolação dos íons, resultando num maior fluxo da solução do solo em temperaturas elevadas.

Nos processos físicos do solo, a troca de cátions adsorvidos no espaço livre é muito pouco afetada pela temperatura. Entretanto, reações químicas e bioquímicas são muito mais dependentes da temperatura. A influência térmica sobre a permeabilidade das

células pode derivar das transições do estado da bicamada lipídica das membranas, que podem variar de um estado de grande fluidez até o de gel-cristalino, sob extremos de temperatura, ou das mudanças provocadas nas enzimas e proteínas transportadoras.

Experimentalmente, em baixas temperaturas, tanto a absorção de íons quanto o processo de respiração celular decaem rapidamente, em plantas sensíveis ao resfriamento. Nestas condições a restrição da absorção de íons pode estar relacionada tanto à redução da fluidez da membrana quanto à inativação da H^+ -ATPase da membrana plasmática, a qual depende de um aporte contínuo de ATP oriundo da respiração. Por outro lado, em temperaturas supra-ótimas, a respiração aumenta e a absorção diminui, indicando uma possível desestabilização dos lipídios da membrana plasmática, e a conseqüente perda da permeabilidade seletiva. O aumento da fluidez da fase lipídica da membrana ocorre bem antes da temperatura necessária à desnaturação protéica, quando não só os transportadores, mas também todo o metabolismo celular, passam a se deteriorar.

Umidade

A água é o veículo principal que faz com que os íons sejam absorvidos pelas plantas. Um baixo conteúdo de água no solo induz inexoravelmente à deficiência mineral. Um exemplo clássico é a deficiência de cálcio na planta, caracterizada pela morte apical (podridão apical), distúrbio típico da deficiência de água, quando o deslocamento do cálcio é prejudicado causando problemas nas membranas e parede de células em divisão. Ou seja, não basta que os elementos estejam na proporção adequada à nutrição da planta, como também é fundamental que o fluxo de água no solo seja suficiente para a solubilização e transporte destes nutrientes (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

Aeração

A assimilação ativa de elementos pelas plantas é dependente de energia metabólica, principalmente sob a forma de ATP, a qual é sintetizada principalmente pela respiração celular aeróbica. Quando a aeração começar a diminuir, a assimilação dos íons requeridos em maior proporção pela planta, como o potássio e o fósforo, também diminui, sendo a redução proporcional ao decréscimo na tensão do O_2 nos tecidos.

As condições ótimas de aeração do solo são atingidas quando as trocas de gases entre o ar do solo e a atmosfera são suficientemente rápidas para evitar a deficiência de oxigênio consumido e a toxidez do CO_2 produzido pela atividade biológica do solo, mantendo os níveis requeridos para o desenvolvimento normal das raízes e dos microrganismos aeróbicos. Assim, a aeração também exerce um efeito indireto sobre a absorção, uma vez que aumenta a disponibilidade dos nutrientes no solo devido à transformação da matéria orgânica (mineralização). Um agravante decorre do fato de a decomposição anaeróbica da matéria orgânica ser incompleta, formando produtos intermediários, como ácidos orgânicos, que em situações extremas podem acumular-se em concentrações tóxicas.

Quando a disponibilidade de O_2 é ideal, observa-se um efeito indireto sobre a assimilação de nutrientes, como, por exemplo, a oxidação de elementos como do íon NH_4^+ a NO_3^- (por bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*), e do S_2 a SO_4^{2-} (forma de enxofre absorvida pelas raízes). Entretanto, a aeração pode em alguns casos reduzir a disponibilidade de Fe e Mn devido à insolubilidade de suas formas oxidadas, sob condições alcalinas. Portanto, um balanço equilibrado entre o pH do solo e a aeração é importante para determinar as condições de excesso ou carência destes elementos.

pH

Oscilações no pH do solo e principalmente da rizosfera exercem influência sobre a disponibilidade de vários nutrientes essenciais, assim como a de alguns elementos que podem exercer fitotoxicidade. Os danos advindos de variações bruscas no pH do solo afetam as plantas, quer diretamente, em decorrência da ação da concentração dos íons hidrogênio, quer indiretamente por deficiência de nutrientes ou por toxidez química. Neste contexto, é importante lembrar que a matéria orgânica possui poder tamponante e promove a estabilização do pH do solo.

O efeito primário do pH refere-se à competição entre os íons H^+ e os outros cátions (pH baixo/ácidos), e do OH^- com os outros ânions (pH alto/alcalinos). Como a acidez predomina na maioria dos solos, o efeito do H^+ tem maior relevância. Quando a concentração de H^+ aumenta (redução do pH), a absorção de K^+ diminui drasticamente, principalmente na ausência de Ca^{++} , quando ocorre inclusive o efluxo de K^+ . A adição de Ca^{++} reduz o efluxo de K^+ induzido pelo excesso de H^+ , um reflexo do efeito protetor e regulatório que o Ca^{++} exerce sobre a estrutura e a função da membrana plasmática. Todavia, o excesso de íons H^+ também afeta adversamente o mecanismo de transporte de íons por diminuir a eficiência da H^+ -ATPase, reduzindo o efluxo de H^+ para o exterior celular e, conseqüentemente, o potencial eletroquímico que energiza o sistema secundário de transporte iônico.

A acidez do solo aumenta gradualmente, na medida em que cálcio e magnésio são perdidos por lixiviação. Em solos de regiões úmidas há correlação perfeitamente clara entre o pH e as quantidades destes dois componentes presentes sob a forma trocável. Prevalecem as mesmas correlações gerais quanto às regiões áridas, exceto nos casos em que é adsorvida apreciável quantidade de sódio.

Em solos ácidos, quantidades apreciáveis de Al e micronutrientes como Fe, Mn, Bo e Mo estão sob a forma de espécies solúveis, e podem tornar-se extremamente tóxicos para a maioria das plantas cultivadas. Entretanto, ao aumentar o pH, estes elementos adquirem formas insolúveis e precipitam, tornando-se cada vez menores as proporções destes íons na solução, até que, em solo neutro ou alcalino, certos vegetais poderão sofrer falta de Mn e Fe assimiláveis. Todavia, em geral, a disponibilidade dos macronutrientes é máxima na faixa de pH entre 6 e 7, e na qual não se observam grandes limitações para os micronutrientes.

Interações iônicas

Na solução do solo tanto os cátions quanto os ânions estão presentes em concentrações e formas diferentes, e estes podem interagir durante sua absorção por sinergismo ou inibição. O sinergismo ocorre quando a absorção de um elemento é estimulada pela presença de outro. Um exemplo de sinergismo é o estímulo à absorção de cátions e ânions na presença de baixas concentrações de cálcio. O magnésio pode aumentar a absorção do fósforo, enquanto baixas concentrações de zinco também podem induzir o mesmo efeito.

A inibição ocorre quando há redução na taxa de absorção de um determinado elemento em virtude da presença de um outro. A inibição pode ser competitiva ou não-competitiva. A inibição competitiva ocorre quando os elementos competem pelo mesmo sítio ativo do transportador. Este é o caso, por exemplo, da inibição da absorção de K^+ verificada durante o estresse salino, quando os íons Na^+ competem pelos mesmos sítios de vários transportadores de K^+ . Neste tipo de competição a inibição imposta pelo íon inibidor pode ser anulada pelo aumento na concentração do elemento. Na inibição não-competitiva o íon inibidor afeta o transporte ao se ligar não no sítio ativo, mas noutra região qualquer da proteína transportadora capaz de induzir uma conformação que diminua a afinidade ou prejudique de alguma forma o transporte de seu íon específico. Neste caso o efeito do inibidor não pode ser revertido com o aumento na concentração do íon.

Micorrização

Um importante fenômeno ecológico que remonta aos primórdios da primeira invasão das terras continentais pelas plantas consiste na interação simbiótica entre plantas e fungos micorrízicos. Mais de 80% das espécies de plantas podem estabelecer este tipo de interação, e de fato, na natureza, a maior parte das raízes encontra-se colonizada por fungos micorrízicos, sendo chamadas micorrizas. A absorção de nutrientes pelas micorrizas segue os mesmos princípios básicos de transporte descritos acima, porém a maior parte dos processos de absorção de nutrientes do solo passa a depender dos sistemas de transporte das hifas fúngicas. O incremento da nutrição fosfatada é o principal benefício que a planta obtém desta interação. O fungo por sua vez absorve os fotoassimilados da planta, induzindo um dreno bastante elevado de sacarose da parte aérea para as raízes.

A colonização das raízes pelos fungos micorrízicos é estimulada pela liberação de substâncias orgânicas pelas raízes e por microrganismos do solo. Recentemente, estringolactonas exsudadas pelas raízes foram identificadas como principais moléculas sinalizadoras do processo de reconhecimento para o estabelecimento da colonização micorrízica. Dependendo da espécie de fungo micorrízico, este pode drenar de 10 a 45% dos fotoassimilados transferidos para as raízes. Assim, os benefícios para a planta dependem de um balanço positivo entre a perda de açúcar para o fungo e a capacidade deste de promover modificações que favorecem o crescimento da planta. Além do aumento na

área superficial e da eficiência dos mecanismos de absorção de água e sais minerais, o fungo pode secretar fosfatases e outras enzimas hidrolíticas que aumentam a disponibilidade de certos nutrientes no solo. O aumento na eficiência dos mecanismos de absorção de P do sistema simbiótico se traduz em aumento de $V_{máx}$ e diminuição de K_m e de $C_{mín}$. As raízes micorrizadas apresentam maiores valores de $V_{máx}$ e muito mais baixos valores de K_m e de $C_{mín}$, indicando uma maior eficiência na absorção de P do que as não-micorrizadas.

FUNÇÃO DOS ÍONS E SINTOMAS DE EXCESSO E DE CARÊNCIA

Os nutrientes essenciais são exigidos pelos vegetais em quantidades determinadas, que variam de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento e a exposição a estresses ambientais ou interações ecológicas. Com exceção do carbono, hidrogênio e oxigênio atmosféricos, os principais elementos essenciais encontram-se nos solos em combinações químicas diferentes, sendo absorvidos somente quando sob algumas formas específicas. Estes elementos são imprescindíveis para que a planta possa realizar várias e importantes funções (Tabela 2.3). A carência e o excesso estão relacionados com sintomas visíveis que se relacionam com sua *função* e *mobilidade*. Plantas deficientes em nutrientes móveis, como N, P, K, Mg, S e Cl, apresentam os respectivos sintomas de deficiências em órgãos mais maduros, como nas folhas basais, por exemplo. Já plantas deficientes em nutrientes com mobilidade intermediária (Fe, Zn, Cu, B e Mo) e mobilidade baixa (Ca e Mn) são afetadas primeiramente nos tecidos mais jovens.

De maneira geral os sintomas de deficiências nutricionais somente se tornam visíveis claramente quando a deficiência já está num estágio avançado e os níveis de produção das culturas foram grandemente afetados. Sintomas de deficiência nutricional manifestam-se principalmente nas folhas, sendo a clorose (amarelecimento) e a necrose critérios para a diagnose visual. Geralmente os sintomas de deficiência se expressam mais especificamente do que os de toxidez, a não ser quando a toxidez gerada por um determinado elemento induz a deficiência de outro.

Neste final de capítulo vamos apresentar um sumário das principais características típicas de deficiências nutricionais. Entretanto, é importante informar que estas características foram derivadas de experimentos agrônômicos com espécies cultivadas. Um espectro muito mais amplo e complexo de sintomas deve existir na diversidade de espécies vegetais silvestres. Além disso, muitos dos sintomas foliares de deficiência são similares e facilmente confundidos com sintomas causados por estresses físicos, pragas ou doenças.

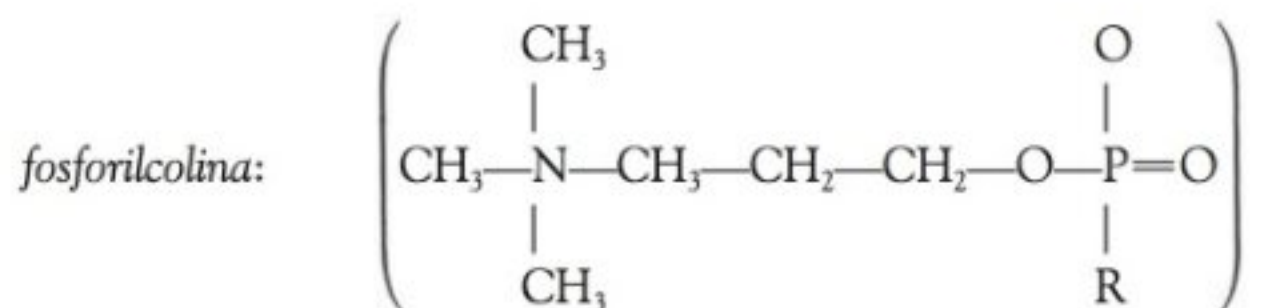
Deficiência de nitrogênio

A principal forma em que o nitrogênio encontra-se na atmosfera (N_2) não pode ser diretamente utilizada pela célula vegetal (ver Cap. 3, Fixação do Nitrogênio). Assim, para a absorção dos íons nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), as duas formas principais de

nitrogênio presentes no solo, as plantas dispõem de transportadores específicos nas células das raízes. Todavia, nem sempre ambas as formas estão presentes nos solos em concentrações em que podem ser captados por estes transportadores. Quando isto ocorre, os sintomas mais comuns de deficiência de N incluem, além da perda acentuada de vigor, visualizada pela diminuição sensível do crescimento da parte aérea e formação de folhas e flores, o amarelecimento generalizado dos tecidos clorofilados e a formação de áreas púrpuras devido ao acúmulo de antocianinas. Todavia, algumas plantas como as leguminosas podem suprir a demanda por N pela difusão simples do N_2 nas células, através do processo de fixação biológica do nitrogênio (ver Cap. 3, Fixação do Nitrogênio). Em alguns casos, a presença não detectada de bactérias endofíticas é um fator que confunde a correta interpretação em experimentos de privação de N.

Deficiência de fósforo

O fósforo é absorvido principalmente na forma de íons fosfato ($H_2PO_4^-$ ou HPO_4^{2-}), mas internamente na planta também se move na forma de fosforilcolina, distribuindo-se facilmente pelo floema.



Desta forma este se acumula nas folhas mais novas, flores e sementes em desenvolvimento. Sintomas de sua deficiência aparecem em folhas mais velhas, com manchas de coloração tipicamente arroxeadas, causadas pelo acúmulo de antocianinas. A expansão foliar é comprometida, há decréscimo no número de flores e atraso na iniciação floral, culminando numa baixa produção, e em casos de privação contínua, na morte da planta.

Deficiência de potássio

O K^+ é um íon de alta mobilidade, sendo rapidamente translocado das folhas mais velhas para folhas mais novas e regiões meristemáticas, com o conseqüente surgimento de sintomas de deficiência nas primeiras. De modo geral, sob deficiência potássica a síntese de parede celular e a turgescência celular são prejudicadas, predispondo as plantas ao tombamento por vento ou chuva. A absorção de água pela parte aérea, via transpiração e pressão radicular, é reduzida, acarretando murchamento das plantas com relativa facilidade. A formação e o crescimento de gemas podem ser inibidos pela privação prolongada deste nutriente.

Deficiência de enxofre

Absorvido principalmente na forma de SO_4^{2-} , o enxofre pode ser metabolizado nas raízes numa pequena extensão, conforme as necessidades desses órgãos; assim, a maior parte do SO_4^{2-}

área superficial e da eficiência dos mecanismos de absorção de água e sais minerais, o fungo pode secretar fosfatases e outras enzimas hidrolíticas que aumentam a disponibilidade de certos nutrientes no solo. O aumento na eficiência dos mecanismos de absorção de P do sistema simbiótico se traduz em aumento de $V_{máx}$ e diminuição de K_m e de $C_{mín}$. As raízes micorrizadas apresentam maiores valores de $V_{máx}$ e muito mais baixos valores de K_m e de $C_{mín}$, indicando uma maior eficiência na absorção de P do que as não-micorrizadas.

FUNÇÃO DOS ÍONS E SINTOMAS DE EXCESSO E DE CARÊNCIA

Os nutrientes essenciais são exigidos pelos vegetais em quantidades determinadas, que variam de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento e a exposição a estresses ambientais ou interações ecológicas. Com exceção do carbono, hidrogênio e oxigênio atmosféricos, os principais elementos essenciais encontram-se nos solos em combinações químicas diferentes, sendo absorvidos somente quando sob algumas formas específicas. Estes elementos são imprescindíveis para que a planta possa realizar várias e importantes funções (Tabela 2.3). A carência e o excesso estão relacionados com sintomas visíveis que se relacionam com sua *função e mobilidade*. Plantas deficientes em nutrientes móveis, como N, P, K, Mg, S e Cl, apresentam os respectivos sintomas de deficiências em órgãos mais maduros, como nas folhas basais, por exemplo. Já plantas deficientes em nutrientes com mobilidade intermediária (Fe, Zn, Cu, B e Mo) e mobilidade baixa (Ca e Mn) são afetadas primeiramente nos tecidos mais jovens.

De maneira geral os sintomas de deficiências nutricionais somente se tornam visíveis claramente quando a deficiência já está num estágio avançado e os níveis de produção das culturas foram grandemente afetados. Sintomas de deficiência nutricional manifestam-se principalmente nas folhas, sendo a clorose (amarelecimento) e a necrose critérios para a diagnose visual. Geralmente os sintomas de deficiência se expressam mais especificamente do que os de toxidez, a não ser quando a toxidez gerada por um determinado elemento induz a deficiência de outro.

Neste final de capítulo vamos apresentar um sumário das principais características típicas de deficiências nutricionais. Entretanto, é importante informar que estas características foram derivadas de experimentos agrônômicos com espécies cultivadas. Um espectro muito mais amplo e complexo de sintomas deve existir na diversidade de espécies vegetais silvestres. Além disso, muitos dos sintomas foliares de deficiência são similares e facilmente confundidos com sintomas causados por estresses físicos, pragas ou doenças.

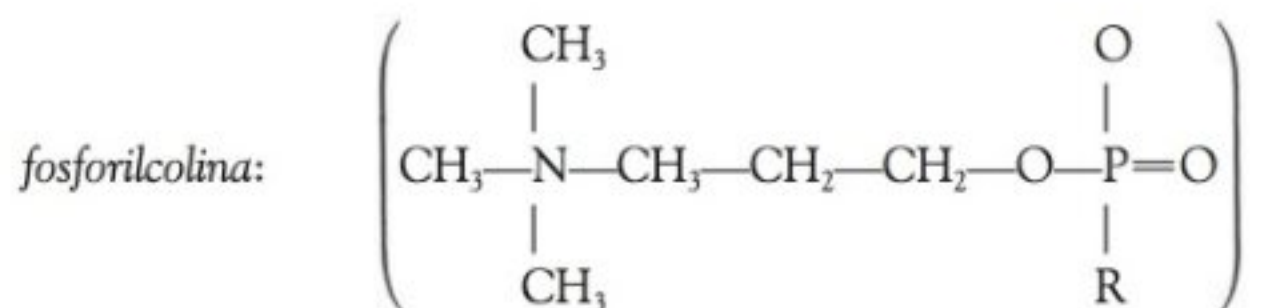
Deficiência de nitrogênio

A principal forma em que o nitrogênio encontra-se na atmosfera (N_2) não pode ser diretamente utilizada pela célula vegetal (ver Cap. 3, Fixação do Nitrogênio). Assim, para a absorção dos íons nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), as duas formas principais de

nitrogênio presentes no solo, as plantas dispõem de transportadores específicos nas células das raízes. Todavia, nem sempre ambas as formas estão presentes nos solos em concentrações em que podem ser captados por estes transportadores. Quando isto ocorre, os sintomas mais comuns de deficiência de N incluem, além da perda acentuada de vigor, visualizada pela diminuição sensível do crescimento da parte aérea e formação de folhas e flores, o amarelecimento generalizado dos tecidos clorofilados e a formação de áreas púrpuras devido ao acúmulo de antocianinas. Todavia, algumas plantas como as leguminosas podem suprir a demanda por N pela difusão simples do N_2 nas células, através do processo de fixação biológica do nitrogênio (ver Cap. 3, Fixação do Nitrogênio). Em alguns casos, a presença não detectada de bactérias endofíticas é um fator que confunde a correta interpretação em experimentos de privação de N.

Deficiência de fósforo

O fósforo é absorvido principalmente na forma de íons fosfato ($H_2PO_4^-$ ou HPO_4^{2-}), mas internamente na planta também se move na forma de fosforilcolina, distribuindo-se facilmente pelo floema.



Desta forma este se acumula nas folhas mais novas, flores e sementes em desenvolvimento. Sintomas de sua deficiência aparecem em folhas mais velhas, com manchas de coloração tipicamente arroxeadas, causadas pelo acúmulo de antocianinas. A expansão foliar é comprometida, há decréscimo no número de flores e atraso na iniciação floral, culminando numa baixa produção, e em casos de privação contínua, na morte da planta.

Deficiência de potássio

O K^+ é um íon de alta mobilidade, sendo rapidamente translocado das folhas mais velhas para folhas mais novas e regiões meristemáticas, com o conseqüente surgimento de sintomas de deficiência nas primeiras. De modo geral, sob deficiência potássica a síntese de parede celular e a turgescência celular são prejudicadas, predispondo as plantas ao tombamento por vento ou chuva. A absorção de água pela parte aérea, via transpiração e pressão radicular, é reduzida, acarretando murchamento das plantas com relativa facilidade. A formação e o crescimento de gemas podem ser inibidos pela privação prolongada deste nutriente.

Deficiência de enxofre

Absorvido principalmente na forma de SO_4^{2-} , o enxofre pode ser metabolizado nas raízes numa pequena extensão, conforme as necessidades desses órgãos; assim, a maior parte do SO_4^{2-}

TABELA 2.3
Funções principais dos macro- e microelementos em vegetais

Elemento	
N	Elemento estrutural de proteínas, nucleotídeos, lipídios e de alguns sacarídeos; elemento regulatório, onde os íons nitrato e amônio regulam várias reações metabólicas.
P	Elemento estrutural (p. ex., nucleotídeos, fosfolipídios), transferência de energia (ATP, PPi, NADPH e etc.), elemento regulador via fosforilação e defosforilação de enzimas.
K	Regulação osmótica, homeostase iônica, relações hídricas, movimento estomático, alongamento celular, ativação de enzimas, síntese de proteínas, fotossíntese, transporte de açúcares no floema, movimentos nas plantas.
Ca	Estrutura da parede celular, homeostase iônica, integridade celular, segundo mensageiro fundamental à sinalização celular.
Mg	Constituinte estrutural da clorofila, conformação de proteínas, ativação de enzimas (Rubisco e PEPcarboxilase), transferência de energia ao compor os substratos ATP-Mg e PPi-Mg.
S	Constituinte do grupo funcional de várias enzimas, constituinte de agentes redutores, desintoxicação de metais pesados, componente estrutural (aminoácidos, polissacarídeos sulfatados).
B	Estrutura da parede celular, metabolismo de fenóis, regulação do transporte de auxina, ativador da enzima fosforilase do amido.
Cl	Fotólise da água, regulação do movimento dos estômatos, modulação do potencial de membrana.
Cu	Estrutura de citocromos e enzimas que reagem com oxigênio; controle de espécies reativas de oxigênio Cu/Zn-SOD (superóxido dismutase).
Fe	Estrutura de citocromos, atuante nas reações de transferência de elétrons durante a fotossíntese; controle de espécies reativas de oxigênio via Fe-SOD (superóxido dismutase).
Mn	Controle de espécies reativas de oxigênio via Mn-SOD (superóxido dismutase); constituinte do complexo polinuclear do fotossistema II; ativador de metaloenzimas.
Mo	Transferência de elétrons (nitrato redutase); atua no processo de fixação biológica de nitrogênio (nitrogenase bacteriana).
Ni	Mobilização de nitrogênio a partir da uréia via urease (metaloenzima dependente de Ni); controle de espécies reativas de oxigênio via Ni-SOD (superóxido dismutase).
Zn	Domínios 'zinc finger' para ligação de proteínas ao DNA; ativação de metaloenzimas; sinalização via auxinas; controle de espécies reativas de oxigênio Cu/Zn-SOD (superóxido dismutase).

absorvida é translocada para a parte aérea. Os sintomas de deficiência de enxofre consistem em clorose generalizada em toda a superfície foliar. Em muitas espécies o enxofre não é facilmente redistribuído a partir dos tecidos maduros; conseqüentemente, esses sintomas são usualmente observados em folhas mais jovens. Contudo, em certas espécies, a clorose aparece simultaneamente tanto em folhas velhas quanto nas mais novas.

Deficiência de magnésio

A absorção do Mg pelas plantas é fortemente modulada pela concentração de outros elementos essenciais, podendo estes atuar de forma sinérgica ou antagônica sobre o sistema de transporte de Mg. Por exemplo, elevadas concentrações de NH_4^+ e K^+ podem

inibir a absorção do Mg^{2+} , enquanto a disponibilidade de concentrações adequadas de P potencializa a absorção do Mg^{2+} , e vice-versa. O magnésio é altamente móvel no floema e, portanto, na sua ausência, sintomas de deficiência manifestam-se sobretudo nas folhas mais velhas, formando áreas cloróticas tipicamente internervais.

Deficiência de cálcio

A absorção do Ca^{2+} depende tanto de seu suprimento na solução do solo quanto das taxas de transpiração, posto que esse íon é transportado passivamente na corrente transpiratória. O cálcio não é carregado nos elementos de tubo crivado e, como conseqüência, sintomas de sua deficiência aparecem mais forte-

mente em folhas mais jovens, com deterioração nas pontas e nas margens. Zonas meristemáticas, sejam elas apicais ou laterais, em processo ativo de divisão celular, são altamente susceptíveis, na medida em que o cálcio é requerido para a formação das estruturas pécticas da nova parede celular que surge entre as células recém-formadas. Dado o papel importante desse cátion como mensageiro secundário dos sinais primários reguladores de vários aspectos do desenvolvimento das plantas, sua concentração é mantida bastante estável no interior das células, em geral, variando entre 100 e 200 nM.

Deficiência de boro

É absorvido na forma de ácido bórico não-dissociado e, em pH fisiológico, encontra-se sob a mesma forma na planta. Deficiência de boro provoca uma redução na síntese de citocininas e no transporte de algumas auxinas, que passam a acumular-se, nessa condição, nos meristemas onde são sintetizadas. O acúmulo de fenóis também é freqüente e pode estar associado com necroses foliares. A incorporação de resíduos de glicose em polissacarídeos, assim como o conteúdo total de celulose da parede celular, são intensamente reduzidos. Nas raízes, deficiência de B induz incrementos na atividade de oxidases do ácido-indolacético (AIA), a auxina mais abundante na plantas. Como consequência, deficiência de B reduz a resistência mecânica de caules e pecíolos, acarreta uma deterioração nas bases das folhas novas, reduz o crescimento radicular e pode levar inclusive à morte de raízes, especialmente nos ápices meristemáticos.

Deficiência de ferro

As atividades químicas desse elemento, tanto na forma ferrosa (Fe-II) quanto na férrica (Fe-III), são muito baixas na solução do solo, independentemente do seu conteúdo total no solo, especialmente quando o pH é maior que 5,0. Nessa condição, Fe reage com grupos OH^- , precipitando-se na forma de óxidos metálicos hidratados. Diferentes espécies de plantas desenvolveram diferentes estratégias para solubilizar e absorver Fe. Gramíneas, por exemplo, exsudam fitossideróforos (por exemplo, ácido avênico, ácido mugênico), que são ácidos iminocarboxílicos que complexam o Fe-III, por meio de seus átomos de O e N; o complexo como um todo é absorvido, o Fe é liberado e utilizado pela planta, enquanto o fitossideróforo deve ser metabolizado ou liberado para o solo, onde novamente atua. Uma outra estratégia, presente em dicotiledôneas e em algumas monocotiledôneas, envolve um transportador do tipo ABC (*ATP-binding Cassette*), uma redutase induzível e a liberação de agentes quelantes, normalmente compostos fenólicos, que se ligam ao Fe-III na rizosfera e movem-se à membrana, onde o Fe é reduzido antes de ser absorvido.

Uma vez que é relativamente imóvel no floema, a clorose internerval típica da deficiência de Fe manifesta-se, inicialmente, nas folhas mais jovens. Subseqüentemente, a clorose pode atingir também as nervuras, até a folha ficar, como um todo, amare-

lada. Em vários casos, a folha pode tornar-se branca com áreas necróticas, em razão da inibição da síntese de clorofilas.

Deficiência de manganês

No solo, o Mn ocorre sob três estados de oxidação (Mn^{2+} , Mn^{3+} e Mn^{4+}), como óxidos insolúveis ou quelatos. É largamente absorvido na forma Mn^{2+} após liberação de uma molécula quelante ou após a redução de óxidos de valências superiores. A deficiência de Mn é incomum em ambientes naturais, mas nos experimentos de privação de Mn, observa-se uma desorganização das membranas dos tilacóides e clorose internerval nas folhas mais jovens.

Deficiência de cobre

O cobre está fortemente ligado à matéria orgânica ou a compostos solúveis na solução do solo. Em solos bem arejados é absorvido principalmente como Cu^{2+} , ou como Cu^+ em solos úmidos e encharcados. Este elemento move-se com relativa facilidade na forma de complexos aniônicos, das folhas mais velhas para as mais novas. Sob deficiência, a mobilidade do cobre é muito baixa. De um modo geral, apesar de a deficiência de cobre ser rara, quando ocorre, resulta em fechamento estomático, murchamento devido à lignificação reduzida das paredes celulares, e formação de grãos de pólen não-viáveis. Tais sintomas estão associados parcialmente ao estresse energético decorrente da depleção do ATP citoplasmático, posto que o cobre participa de grupos prostéticos dos citocromos da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial.

Deficiência de zinco

O zinco é absorvido na forma divalente e não sofre oxidação ou redução, como ocorre com outros metais de transição. Sob deficiência de zinco, normalmente há uma redução na taxa de alongamento do caule, o que se explica por uma possível exigência de Zn para a síntese de auxinas. Outros sintomas manifestam-se nas partes mais novas da planta, com o encurtamento dos entrenós, clorose branda das folhas, redução do tamanho e deformação das folhas. Excesso de calagem, elevado índice de lixiviação e alta concentração de fósforo no solo favorecem a deficiência de Zn.

Deficiência de molibdênio

O molibdênio é constituinte das enzimas nitrato redutase e da nitrogenase (esta última não é uma enzima de plantas, mas de microrganismos fixadores de N associados a elas). Os sintomas de deficiência de molibdênio expressam-se em condições de carência de nitrogênio, apresentando um amarelecimento das folhas mais velhas e possíveis necroses marginais com acúmulo de nitrato. Solos com pH abaixo de 5,0 predispõem à deficiência desse nutriente. A correção se faz com a calagem e a aplicação de molibdato de amônio no solo, ou por pulverização foliar. Não se deve fazer mais de uma aplicação de molibdato no solo, já que os níveis tóxicos são facilmente atingidos.

Deficiência de cloro

O cloro juntamente com o Mn participa da fotólise da água, assim sua carência afeta a fotossíntese e a turgescência celular, por também ser utilizado para manter a neutralidade de cargas e como agente osmótico. A deficiência de cloro é raríssima, mas quando ocorre pode induzir forte redução do crescimento, clorose generalizada e necrose, bem como o atrofiamento das raízes. Inicialmente, os sintomas acentuam-se nas zonas mais velhas das plantas.

Deficiência de níquel

O níquel participa da urease, enzima importante para a mobilização de compostos nitrogenados na germinação de sementes, podendo levar à inviabilidade das sementes. Na deficiência de níquel pode ocorrer acumulação de ureídeos nas folhas, que são moléculas transportadoras de N, o que pode causar problemas na fixação biológica de N em leguminosas associadas com rizóbio.

REFERÊNCIAS

- Arnon DI, Stout PR. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*, 1939a; 14:371-375.
- Arnon DI, Stout PR. Molybdenum as an essential element for higher plants. *Plant Physiology*, 1939b; 14:599-602.
- Browne CA. A source book of agricultural chemistry. *Chronica Botanica*, 1943; 8(1):1-290.
- Bortels H. Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung. *Archiv für Mikrobiologie*, 1930; 1:333-342.
- Brown PH, Welch RM, Cary EE. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology*, 1987; 85:801-803.
- Broyer TC, Carton AB, Johnson CM, Stout PR. Chlorine: a micronutrient element for higher plants. *Plant Physiology*, Lancaster, 1954; 29(6):526-532.
- Canellas LP, Zandonadi DB, Olivares FL, Façanha AR. Efeitos fisiológicos de substâncias húmicas o estímulo às H⁺-ATPases. In: Fernandes MS (ed). *Nutrição Mineral de Plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2006. 175-200.
- de Saussure N-T. *Recherches Chimiques sur la Végétation (Chemical researches About the Vegetation)*. Paris: Nyon Widow, 1804.
- Dechem AR, Nachtigall GR. Elementos essenciais e benéficos às plantas. In: Fernandes MS (ed). *Nutrição Mineral de Plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2006. 1-6.
- Epstein E. Mineral metabolism. In: Bonner J, Vagner JE (eds). *Plants Biochemistry*. London, Academic Press, 1972. 438-446.
- Hoagland DR, Arnon DL. The water culture methods for growing plants without soil. Berkeley, California Agriculture Experimentation Station, 1950, 32p. (Bulletin, 347).
- Jackson ML, Sherman GD. Chemical weathering of minerals in soil. *Adv. Agron.*, 1953; 5:219-318.
- Jovot H, Pumplin N, Harrison MJ. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant Cell Environ.*, 2007; 30:310-322.
- Lipman CB, MacKinney G. Proof of the essential nature of copper for higher green plants. *Plant Physiology*, 1931; 6:593-99.
- Malkanthi DRR, Yokoyama K, Yoshida T, Moritsugu M, Matsushita K. Effects of low pH and Al on growth and nutrient-uptake of several plants. *Soil Sci. Plant. Nutr.*, 1995; 41:161-165.
- Mazé P. Determiation des elements mineraux rares necessaires au developpement du maïs. *Compt. Rend. Acad. Sci. France*, 1915; 160:211-214.
- Mengel K, Kirkby EA. *Principles of Plant Nutrition*. 5 ed. Dordrecht, Kluwer Academic, 2001. 849p.
- Sachs J & Knop W. *Über die Ernährung der Pflanzen durch wäßerige Lösungen bei Ausschluss des Bodens*. Landw Versuchs-stat Dresden, 1860. 65-99, 270-293.
- Sachs J & Knop W. *Künstlicher Boden zu Vegetationsversuchen*. Landw Versuchs-stat Dresden, 1865. 341-344.
- Sommer AL, Lipman CB. Evidence on the indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. *Plant Physiology*, 1926; 1:231-49.
- Ville G. *Les Engrais Chimiques. Entretiens Agricoles (Chemical Fertilizers. Agricultural Discussions)*. Librairie Agricole, Paris. 1867.
- Warington K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann. Botany*, 1923; 37:629-672.

CAPÍTULO 3

Fixação do Nitrogênio

Lázara Cordeiro

CICLO DO NITROGÊNIO

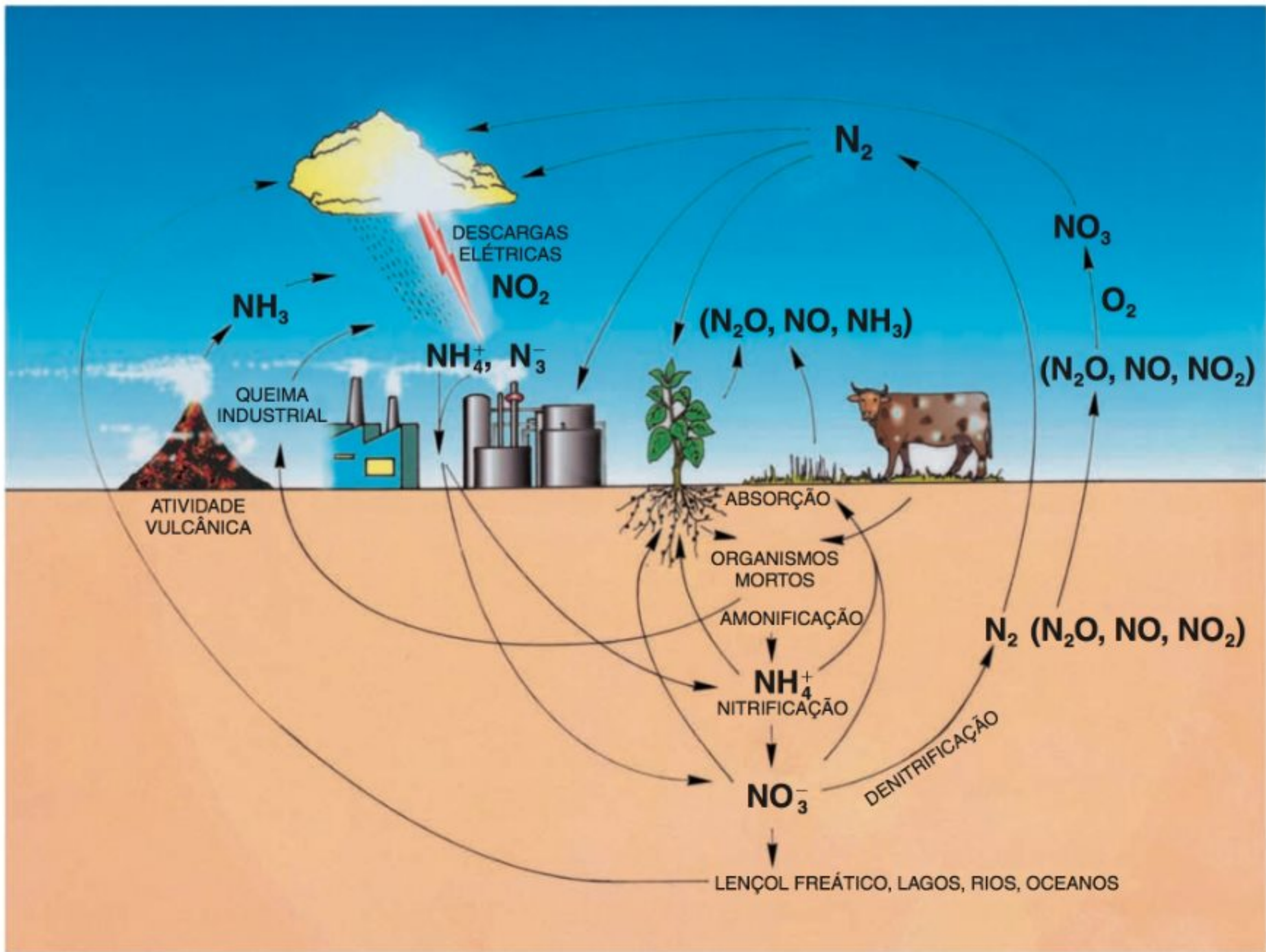
Carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio são os elementos químicos quantitativamente mais abundantes nos seres vivos, correspondendo, o último, aproximadamente a 79% da atmosfera terrestre. Na ecosfera terrestre, 0,04% do nitrogênio estariam na forma combinada, sendo 57% na forma orgânica e 43% na forma inorgânica. Considerando o nitrogênio existente na forma orgânica, somente 4% fazem parte dos seres vivos, sendo 94% localizados nos vegetais, 4% na biomassa microbiana e 2% nos animais (Siqueira & Franco, 1988). O ciclo do nitrogênio, representado na Fig. 3.1, corresponde às contínuas transformações dessas formas por meio de processos físico-químicos e biológicos. A atmosfera contribui com o fornecimento do nitrogênio gasoso e com pequena parcela de nitrogênio combinado nas formas de amônio (NH_4^+), originado de queimas industriais, de atividades vulcânicas e de incêndios florestais, e de nitrato (NO_3^-), originado da oxidação do N_2 pelo O_2 ou pelo ozônio (O_3) na presença de descargas elétricas ou de radiação ultravioleta. O amônio e o nitrato produzidos na atmosfera são transportados para o solo pela chuva, podendo ser absorvidos pelas raízes.

O nitrogênio combinado no solo é o mais susceptível dos compostos às transformações biológicas. As plantas geralmente o absorvem na forma de compostos altamente oxidados, dos quais o nitrato é o principal deles. Após absorção, esses compostos devem ser reduzidos para que sejam incorporados nos diversos constituintes celulares. Portanto, nos animais e nas plantas, o nitrogênio encontra-se, na sua maioria, na forma reduzida como íon amônio (NH_4^+) ou amina (NH_2^-). No outro extremo, o nitrato, principal forma em que o nitrogênio é encontrado no solo, é altamente oxidado, sendo necessária a adição de 8 elétrons para que se converta em amina. O nitrogênio disponível para as plantas pode ser também oriundo diretamente de fertilizantes industriais,

representando uma parcela muito pequena em relação ao total do nitrogênio fixado biologicamente.

Apesar de abundante na atmosfera, o nitrogênio molecular não pode ser absorvido pelas plantas. Exceto pelos microrganismos fixadores ou via adubação nitrogenada, a principal forma de obtenção desse elemento pelas plantas é o aproveitamento do nitrogênio combinado na matéria orgânica. Com o uso das plantas na alimentação dos animais, os compostos nitrogenados são utilizados para produção de novas proteínas. Com a morte dos organismos, bactérias presentes no solo decompõem os compostos orgânicos nitrogenados em aminoácidos, que, por sua vez, são oxidados pelos microrganismos do solo como bactérias e fungos com produção de gás carbônico, água e amônia (amonificação). Em determinadas situações, como solos frios, ácidos e deficientes em oxigênio, o amônio é a principal fonte de nitrogênio, sendo utilizado na constituição de aminoácidos, uma vez que as bactérias nitrificantes não são abundantes e, quando presentes, são menos eficientes. Em solos úmidos e quentes, o amônio é oxidado a nitrito (NO_2^-) por bactérias nitrificadoras, como as *Nitrosomonas*, e este a nitrato (NO_3^-), por bactérias como as *Nitrobacter*.

No solo, o íon amônio encontra-se adsorvido nas partículas coloidais, enquanto o nitrato, por ter carga negativa, torna-se componente da solução sendo facilmente lixiviado nessa condição. A perda de compostos nitrogenados do solo para a atmosfera, ou mesmo para rios, lagos ou mares, pode ocorrer de várias formas, principalmente por volatilização da amônia, por denitrificação ou por lixiviação. A adubação excessiva com sais de nitrato, seguida de chuva abundante, faz com que esses sais sejam carregados para lençóis freáticos, lagos ou rios, constituindo fortes agentes poluidores. Além disso, os vegetais perdem, por lixiviação, pequenas quantidades de NH_3 , N_2O , NO_2 e NO , principalmente quando recebem boa adubação nitrogenada. Bactérias

**FIGURA 3.1**

Ciclo do nitrogênio envolvendo os compartimentos solo, planta e atmosfera (explicação no texto). (Salisbury & Ross, 1991, modificado.)

anaeróbicas utilizam o nitrato como aceptor de elétrons durante o processo da respiração, formando N_2 , NO , N_2O e NO_2 . Esse tipo de processo ocorre em camadas relativamente profundas do solo, em solos compactados, em áreas alagadas, situações típicas de anoxia, ou mesmo em regiões próximas da superfície, com baixa concentração de oxigênio, em função de sua rápida utilização na oxidação da matéria orgânica. As formas oxidadas de nitrogênio na atmosfera têm importante papel ecológico porque, quando convertidas para NO_3 , contribuem para formação do ácido nítrico (HNO_3), comum em chuva ácida.

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

A incorporação do nitrogênio molecular (N_2) encontrado na atmosfera em um composto nitrogenado corresponde à sua fixação, sendo a principal forma de sua introdução nos ecossistemas. Em sentido amplo, podemos considerar descargas elétricas, atividades vulcânicas, fixação industrial e biológica como sendo

formas de fixação de nitrogênio, pois ocorre sua incorporação em um composto nitrogenado. Em sentido mais restrito, consideramos a fixação de nitrogênio como sendo sua redução para formação de amônia (NH_3). Nesse caso, temos a fixação industrial e a fixação biológica. Na fixação industrial, em temperaturas de 300 a 400°C, a queima do petróleo fornece a energia necessária para a reação do hidrogênio com o nitrogênio para formar amônia (processo Haber-Bosh), que pode ser utilizada diretamente como fertilizante ou na produção de outros compostos nitrogenados, como a uréia. Já a fixação biológica é realizada por alguns microrganismos procariontes que possuem o maquinário enzimático necessário para reduzir o nitrogênio molecular a amônia. Esses microrganismos podem ser de vida livre ou viver em associações com organismos eucariontes de diversas categorias taxonômicas, geralmente vegetais superiores, estabelecendo relações simbióticas (ou mutualísticas, segundo alguns autores) em grau variado. A evolução da relação simbiótica entre esses microrganismos e as raízes de fanerógamas levou ao desenvolvimento de estruturas altamente eficientes na proteção do sistema: os nódulos. Para a maioria dos procariontes fixadores de vida livre ou que

vivem em associações, a energia para o processo vem direta ou indiretamente da luz.

Os organismos fixadores de nitrogênio pertencem a três grupos: bactérias, cianobactérias e actinomicetos. As bactérias podem ser de vida livre ou estabelecer relações mutualísticas com plantas de diversas categorias taxonômicas. As bactérias de vida livre, encontradas nos solos podem ser classificadas ainda como aeróbicas (*Azotobacter*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*), bactérias anaeróbicas (*Clostridium*) ou bactérias anaeróbicas facultativas (*Escherichia*, *Klebsiella*). Algumas bactérias de vida livre podem estabelecer relações mutualísticas com plantas (ver adiante neste capítulo). Dentre as cianobactérias, destacamos principalmente as espécies filamentosas, as quais possuem, ocasionalmente, células não-clorofiladas, de paredes espessas, conhecidas como heterocistos, onde ocorrem as produções de ATP por fotofosforilação e o processo de fixação de nitrogênio. Os exemplos mais comuns dessas cianobactérias são *Anabaena cylindrica* e *Nostoc punctiforme*.

Alguns microrganismos fixadores de nitrogênio podem viver associados à filosfera ou à rizosfera de plantas superiores e, nesses casos, poderiam utilizar compostos exsudados pelas folhas ou pelo sistema radicular, respectivamente. Exemplos deste último tipo de associação são bactérias *Beijerinckia fluminensis* e *Azotobacter paspali*, encontradas na rizosfera da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e da gramínea tropical *Paspalum notatum* (grama-comum ou grama-batatais), respectivamente. Várias outras espécies de gramíneas podem apresentar *Beijerinckia fluminensis* na rizosfera e *Herbaspirillum seropedicae* no interior das raízes. Nesses casos, mesmo que as bactérias não penetrem no sistema radicular, pode-se considerar como uma associação mutualística, uma vez que parte do nitrogênio fixado pelo microrganismo é utilizada pela planta e parte dos carboidratos liberados pelas raízes desta é utilizada pelos organismos fixadores. Sistemas mutualísticos envolvendo bactérias endofíticas ocorrem entre *Zea mays* (milho), *Triticum* sp. (trigo) e *Saccharum officinarum* (cana-de-açúcar) com *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense* e *Acetobacter diazotrophicus*, respectivamente (Neves & Rumjanek, 1998).

Entre as cianobactérias, *Nostoc* spp. são encontradas em associação com briófitas como *Anthoceros punctatus* e *Blasia pusilla*, e *Anabaena* spp. podem se desenvolver em cavidades existentes nas folhas da pteridófita *Azolla*, ou, ainda, em raízes de cicadáceas; nesse caso, a infecção é seguida de modificações morfológicas por parte do hospedeiro. Entre as fanerógamas que se associam com microsimbiontes para a fixação de nitrogênio, *Ginkgo biloba* está entre as mais primitivas. Dentre as angiospermas, espécies do gênero *Gunnera* podem ser infectadas por *Nostoc punctiforme*, formando densas colônias dentro do caule, freqüentemente chamadas nódulos.

Considerando as várias associações citadas de cianobactérias com plantas superiores, o gênero *Gunnera* é o único dentre as angiospermas não-leguminosas em que todas as espécies se associam com *N. punctiforme*. Nas demais angiospermas, leguminosas e não-leguminosas fixadoras de nitrogênio, os microsimbiontes fixadores são bactérias genericamente denominadas rizóbio e actinomicetos (para alguns autores, bactérias filamentosas) do

gênero *Frankia*, respectivamente. Os actinomicetos são organismos procariontes, septados, Gram-positivos, que crescem vagarosamente em cultura, sendo necessárias de 4–8 semanas para formar colônias visíveis contra 3–4 dias para rizóbios de crescimento rápido. Enquanto a morfologia dos gêneros de rizóbio varia em caracteres, tais como posição e número de flagelos, *Frankia* é mais altamente diferenciada. Além de apresentar hifas, possui vesículas especializadas no processo da fixação e esporângios, quer seja no estado livre ou em associação. As vesículas apresentam a parede espessada por muitas camadas de lipídio. Esse espessamento da parede funcionaria como proteção à *nitrogenase* que é formada no interior da vesícula, impedindo sua inativação pelo O₂ (ver adiante neste capítulo). A seqüência estrutural do gene *nif** (do inglês *nitrogen fixation*) de *Frankia* apresenta grande grau de homologia com DNA de *Anabaena* e de *Azotobacter*. Esses genes são conservados entre os organismos fixadores. É possível que haja uma base genética comum envolvendo o processo da fixação do nitrogênio, face às semelhanças na regulação e características desse processo entre esses organismos. Rizóbio é uma bactéria Gram-negativa, não-esporulante, aeróbica, em forma de bastonete quando livre em cultura ou no solo, medindo 0,5–0,9 μm por 1,2–3,0 μm, contendo freqüentemente grânulos de ácido β-hidroxibutírico. Embora o rizóbio esteja sempre associado a plantas da família Leguminosae, espécies de *Parasponia* (Ulmaceae) são exemplos de não-leguminosas que, normalmente, estabelecem simbiose com essa bactéria.

Por analogia com o rizóbio, a classificação das espécies de *Frankia* estaria associada com a espécie do hospedeiro no qual o nódulo é formado. Entretanto, esse sistema foi abandonado porque alguns isolados podem infectar uma ampla variedade de hospedeiros. Na infecção por *Frankia*, o nódulo inicia-se com a infecção do pêlo radicular e, diferentemente das leguminosas, origina-se a partir do periciclo. Podem, no entanto, ocorrer outras formas de infecção, como acontece em leguminosas. O nódulo formado possui um sistema vascular ocupando a posição central, que é envolvido pelo tecido infectado, e um córtex espesso, composto de muitos lóbulos, dando a forma coralóide à estrutura. Nesse tipo de nódulos, há produção de antocianinas e taninos. Podem apresentar *leg-hemoglobina* (ver adiante neste capítulo), mas em pequenas quantidades, quando comparado com nódulo de leguminosas. Esse pigmento não é comum a todos os nódulos fixadores de nitrogênio atmosférico de não-leguminosas. Outra característica é que os nódulos em angiospermas não-leguminosas são sempre perenes e, nas leguminosas, duram de poucas semanas a perenes. Os vários gêneros de angiospermas não-leguminosas nodulantes são, geralmente, pioneiros em solos deficientes em nitrogênio como *Alnus*, *Myrica*, *Shepherdia*, *Coriaria*, *Hippophae*, *Eleagnus*, *Ceanothus* e *Casuarina*.

Uma das características comuns aos sistemas simbióticos fixadores de nitrogênio envolvendo as angiospermas pertencentes ou não à família Leguminosae é que o microsimbionte permanece

*Genes *nif* são seqüências genéticas envolvidas especificamente no processo da fixação do nitrogênio atmosférico.

confinado em células funcionais do hospedeiro, formando um tecido denominado *tecido infectado*.

O rizóbio é o microssimbionte sempre associado ao nódulo de leguminosa. O desenvolvimento de nódulos em *Parasponia* (Ulmaeaceae) resultante da associação que ocorre naturalmente com espécies de *Rhizobium* ou de *Bradyrhizobium* constitui exceção. No entanto, estirpes de rizóbio isoladas de várias leguminosas, e mesmo de *Parasponia*, provocaram, em condições de laboratório, o desenvolvimento de estruturas semelhantes aos nódulos radiculares em várias espécies de *Brassica* (couve) e *Arabidopsis thaliana* (Crucifereae), alguns atingindo 5 a 10 mm (Trinick & Hadobas, 1995), *Oryza sativa* e outras espécies da família Gramineae (Bruijn *et al.*, 1995). O rizóbio, porém, não foi detectado internamente. Esses resultados indicam que a presença do rizóbio na rizosfera pode induzir o processo de formação do nódulo sem que tenha ocorrido a infecção da raiz pela bactéria, mas sendo suficiente para desencadear divisões celulares no córtex radicular.

O processo da fixação de nitrogênio é similar entre os diferentes microrganismos que realizam esse processo e envolve uma fonte variável de elétrons, em função do metabolismo do microrganismo ou do hospedeiro, e a enzima *nitrogenase*. Detalharemos o sistema simbiótico rizóbio–leguminosa, o mais estudado, para exemplificar os processos de desenvolvimento do nódulo e da fixação.

As primeiras classificações do rizóbio levavam em consideração características morfológicas e sorológicas associadas a afinidades com o hospedeiro. O desenvolvimento de técnicas em biologia molecular, associadas a um conjunto de informações obtidas em várias áreas do conhecimento, tem possibilitado novas propostas de classificação para o grupo. Consideram-se definidos os gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium*, encontrados em nódulos radiculares, e *Azorhizobium*, encontrado em nódulos caulinares em *Sesbania rostrata*. A maioria das informações genéticas ligadas ao processo simbiótico nas espécies de *Rhizobium* e *Sinorhizobium* localiza-se nos plasmídeos (elementos extracromossômicos denominados pSym); nas espécies de *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, essas informações encontram-se nos cromossomos. Uma classificação cada vez mais precisa possibilitará diferenciar as estirpes com alta eficiência na fixação de nitrogênio daquelas ineficientes ou não-recomendáveis do ponto de vista agrônomo.

Alguns microrganismos de vida livre dependem indiretamente das plantas, enquanto outros são independentes, como é o caso das cianofíceas e bactérias fotossintetizantes. No sistema simbiótico, o microssimbionte depende diretamente do hospedeiro para obter suprimento de energia. Essa distinção, no entanto, nem sempre é clara. No caso da simbiose rizóbio–leguminosa, o hospedeiro fornece à bactéria fotoassimilados, principalmente sacarose, recebendo amônia em troca, que é posteriormente convertida em amidas e ureídos, ainda nos nódulos (ver adiante neste capítulo).

As leguminosas já eram utilizadas pelo homem como alimento e para o enriquecimento do solo, antes mesmo de se conhecer a habilidade que membros dessa família tinham em se associar com o rizóbio e desenvolver nódulos fixadores de nitrogênio atmos-

férico. A demonstração definitiva dessa habilidade foi feita por Hellriegel e Wilfarth, em 1886, que revelaram a função das estruturas nodulares localizadas nas raízes de ervilha. A fixação biológica do nitrogênio é considerada como o principal processo de adição de nitrogênio exógeno aos diferentes ecossistemas, sendo de fundamental importância no balanço desse elemento nos diferentes ambientes, especialmente naqueles de caráter agrícola. No entanto, em ecossistemas naturais equilibrados, onde ocorre o processo da decomposição da matéria orgânica com fluxo de nutrientes em intensidade suficiente para sua manutenção, há menor necessidade de nitrogênio exógeno. Sob essas condições, as leguminosas normalmente não apresentam nódulos ou, quando estes estão presentes, são pouco eficientes ou ineficientes; como consequência, a taxa de nitrogênio fixado pode ser reduzida ou nula. Além disso, a fixação do nitrogênio depende do genótipo do hospedeiro e da estirpe de rizóbio, bem como da interação de ambos com as condições físico-químicas do ambiente.

Do ponto de vista econômico, os sistemas simbióticos, especialmente aqueles resultantes de nódulos radiculares, dão maior contribuição na economia de nitrogênio em comunidades naturais e para a fertilidade dos solos do que os sistemas assimbióticos, podendo, os primeiros, fixar até 100 vezes mais nitrogênio do que estes últimos.

Leguminosae (Fabaceae) constitui a terceira maior família das Angiospermae com três subfamílias distintas: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. A capacidade de associação com rizóbio é comum entre as espécies desta última e menos comum entre as Caesalpinioideae. Uma espécie de leguminosa pode nodular com uma ou mais espécies de rizóbio, assim como uma estirpe de rizóbio pode infectar vários hospedeiros desenvolvendo nódulos eficientes. Essa habilidade para a nodulação entre as espécies de plantas varia muito e nem sempre tem correlação com o fato de a leguminosa ser nativa ou não, havendo, inclusive, aquelas que requerem a presença de rizóbio específico para que ocorra a associação. Assim, muitas espécies introduzidas no Brasil podem apresentar nodulação abundante com rizóbios existentes em nossos solos como *Leucaena leucocephala* (leucena), enquanto espécies nativas podem não produzir nódulos. Algumas espécies apresentam nódulos até a fase adulta, enquanto outras somente no estágio inicial de desenvolvimento. Além disso, fatores como intensidade luminosa, temperatura, aeração, umidade, nutrientes minerais e pH podem afetar a nodulação. Microrganismos presentes no solo, como fungos, bactérias e actinomicetos antagônicos ao rizóbio, podem dificultar a sobrevivência da população rizobiana no solo, interferindo na sua dimensão. Uma das formas com que o antagonismo dos microrganismos se manifesta é através da produção de antibióticos.

Formação do nódulo

Nas leguminosas, a fixação de nitrogênio ocorre após a infecção da raiz pela bactéria e o desenvolvimento do nódulo. Algumas espécies apresentam nódulos caulinares como *Aeschynomene indica* e *Sesbania rostrata*, produzindo-os em grande quantidade, especialmente quando se desenvolvem em áreas alagadas.

Os metabolismos do simbiote e do hospedeiro são complementares, e cada um estimula o outro a produzir substâncias específicas. Ambos possuem genes envolvidos no processo de formação e funcionamento do nódulo, e isso possibilita um grande campo de pesquisa em várias áreas do conhecimento, especialmente na biologia molecular. O rizóbio possui um grande número de genes que controlam vários aspectos da nodulação como especificidade do hospedeiro, infecção e nodulação. Esses genes são ativados ou reprimidos desde o início da associação até o desenvolvimento pleno do nódulo e pertencem a duas categorias: genes estruturais e genes reguladores, que controlam a expressão dos primeiros. Os primeiros se expressam em nível baixo quando na ausência do hospedeiro. O número de genes conhecidos cresce dia a dia, e a terminologia para designá-los está em constante mudança, mas são conhecidos como genes *nod*, e sua principal função é assegurar a troca de sinais entre a bactéria e o hospedeiro (Pueppke, 1996). Esses sinais moleculares por parte da bactéria, cuja síntese é determinada pelos genes *nod* são lipo-oligosacarídeos conhecidos como fatores *nod*. Os genes *nod*, só se expressam quando se estabelece a simbiose, exceção ao *nodD*, cuja expressão está associada à secreção de flavonóides pelo sistema radicular do hospedeiro. Esse gene é comum a todos os rizóbios e, provavelmente, é o primeiro passo na interação gênica entre o simbiote e o hospedeiro. Seu produto protéico NodD, juntamente com uma parte conservada do DNA, conhecida como “*nod box*”, reage com compostos exsudados da planta como os flavonóides, que induzem os genes *nodABC* na bactéria, responsáveis pelos fatores reguladores específicos da bactéria (proteínas NodD). Essas proteínas serviriam como ativadores transcricionais para outros genes. Entretanto, os flavonóides que induzem os genes associados ao *nodD* são produzidos por várias espécies de plantas, incluindo não-angiospermas. Por outro lado, todas as etapas da nodulação envolvem a expressão de genes específicos do hospedeiro denominados genes nodulina, cujos produtos são as nodulinas. Esses genes são também divididos em dois grupos: genes-nodulinas iniciais, ligados ao processo de infecção e desenvolvimento do nódulo, e genes-nodulina tardios, associados ao seu funcionamento, como, por exemplo, no transporte de oxigênio e assimilação do nitrogênio (Bruijn *et al.*, 1994). Exemplos de expressão dos genes-nodulina são o pigmento transportador de oxigênio (leg-hemoglobina), enzimas (como uricase) e componentes da *membrana peribacteróide* ou *membrana-envelope*.

Embora haja várias etapas envolvidas na formação e desenvolvimento do nódulo radicular em leguminosas, pode-se, de forma simplificada, agrupá-las em:

MULTIPLICAÇÃO DO RIZÓBIO NA RIZOSFERA E SUA ADESÃO ÀS RAÍZES

O rizóbio nativo ou introduzido no solo por meio de inoculação necessita multiplicar-se próximo à superfície da raiz antes de ocorrer sua adesão à raiz e penetração nesta. Substâncias produzidas pelas raízes podem agir estimulando essa multiplicação. No entanto, mesmo se houver número suficiente de células rizobianas

próximas à superfície da raiz, elas precisam colonizar essa superfície. Por outro lado, a presença da bactéria na rizosfera da leguminosa pode induzir a formação da estrutura nodular sem entrada do microrganismo, sugerindo que este produz um sinal que desencadeia a multiplicação das células corticais. Há, portanto, troca recíproca de sinais entre os dois componentes do sistema simbiótico. Vários tipos de compostos estão envolvidos nessas etapas de reconhecimento e aderência, uma vez que, para a nodulação ocorrer, a planta precisa ser susceptível e compatível com o tipo de rizóbio, que, por sua vez, deve ser capaz de multiplicar e estar presente na raiz. Essas reações são fundamentais na determinação da especificidade hospedeira. Dessa forma, após o rizóbio ter se multiplicado, aumentando sua população o suficiente, ocorre sua adesão à superfície da raiz. O microrganismo sintetiza polímeros extracelulares, aumentando o nível de interação de tal forma que a aderência torna-se irreversível. Embora ocorra um grande número de compostos produzidos pelo hospedeiro envolvidos no processo de reconhecimento, incluindo as lectinas (glicoproteínas de origem vegetal), é comum a produção de flavonóides e outros compostos cuja função é a indução dos genes *nod*, já mencionados anteriormente. Esses genes induzem a produção de fatores Nod como oligopolissacarídeos que se difundem para a raiz, desencadeando o processo de formação do nódulo. Essa seqüência de reações é rápida, podendo ser observada 1 hora após o início do processo. Em alfafa, 15 segundos após a adição de fator Nod, o pH das células do ápice radicular aumenta em 0,2-0,3, e a despolarização da membrana ocorre após 60 segundos (Sprent, 2001). A superfície da bactéria, composta por polissacarídeos, tem papel fundamental nessa etapa do processo. As proteínas seriam capazes de reagir com esses carboidratos quando o rizóbio é compatível. Os fatores Nod podem também desencadear respostas em tecidos de plantas pertencentes a outras famílias de angiospermas, como já citado.

O sucesso da infecção radicular depende da competição entre estirpes (incluindo as nativas e as introduzidas) e entre o rizóbio e outros microrganismos. Em algumas espécies, substâncias liberadas pela raiz principal que estimulam o crescimento de microrganismos do solo podem, ao contrário, inibir o de determinado tipo de rizóbio. No entanto, com o aparecimento das raízes laterais, pode ocorrer a exsudação de outros compostos que agiriam estimulando o crescimento desse rizóbio. Esse comportamento diferencial entre as raízes pode ser uma das razões de, em algumas espécies, os nódulos serem formados na raiz principal e, em outras, nas raízes laterais.

Com a adesão da bactéria ao pêlo radicular, genes *nod* são ativados e induzem a produção de compostos que provocam o encurvamento da extremidade apical do pêlo radicular (em espécies com esse padrão de infecção) e também a expressão de vários genes que vão agir na epiderme do hospedeiro. A região onde esses processos ocorrem corresponde a uma pequena área da raiz englobando um pêlo radicular (Mylona *et al.*, 1995). A seguir, enzimas produzidas pelas bactérias degradam parte da parede celular, que sofre uma invaginação, iniciando a produção de uma estrutura semelhante a um tubo chamada *corrente de infecção* ou *tubo de infecção*.

PENETRAÇÃO DO RIZÓBIO NA RAIZ E FORMAÇÃO DA CORRENTE DE INFECÇÃO

Foram descobertas, até o momento, três formas básicas de penetração ou infecção da bactéria nas raízes de leguminosas: na primeira, o processo se dá através de pêlo radicular com a formação de uma estrutura tubular (corrente de infecção), no interior da qual as bactérias são conduzidas até as células que formarão o tecido infectado do nódulo, como ocorre, por exemplo, em *Glycine max* (soja); na segunda (via epiderme intacta), as bactérias penetram entre as células epidérmicas, como observado em *Mimosa scabrella* (bracatinga); e, na terceira, a penetração se dá por rupturas da epiderme e do córtex provocadas pela emergência das raízes laterais ou ferimentos, como ocorrem em *Arachis hypogaea* (amendoim), *Dalbergia nigra* (jacarandá-da-baía) e espécies de *Stylosanthes* (estilosantes). A Fig. 3.2 representa as diferentes

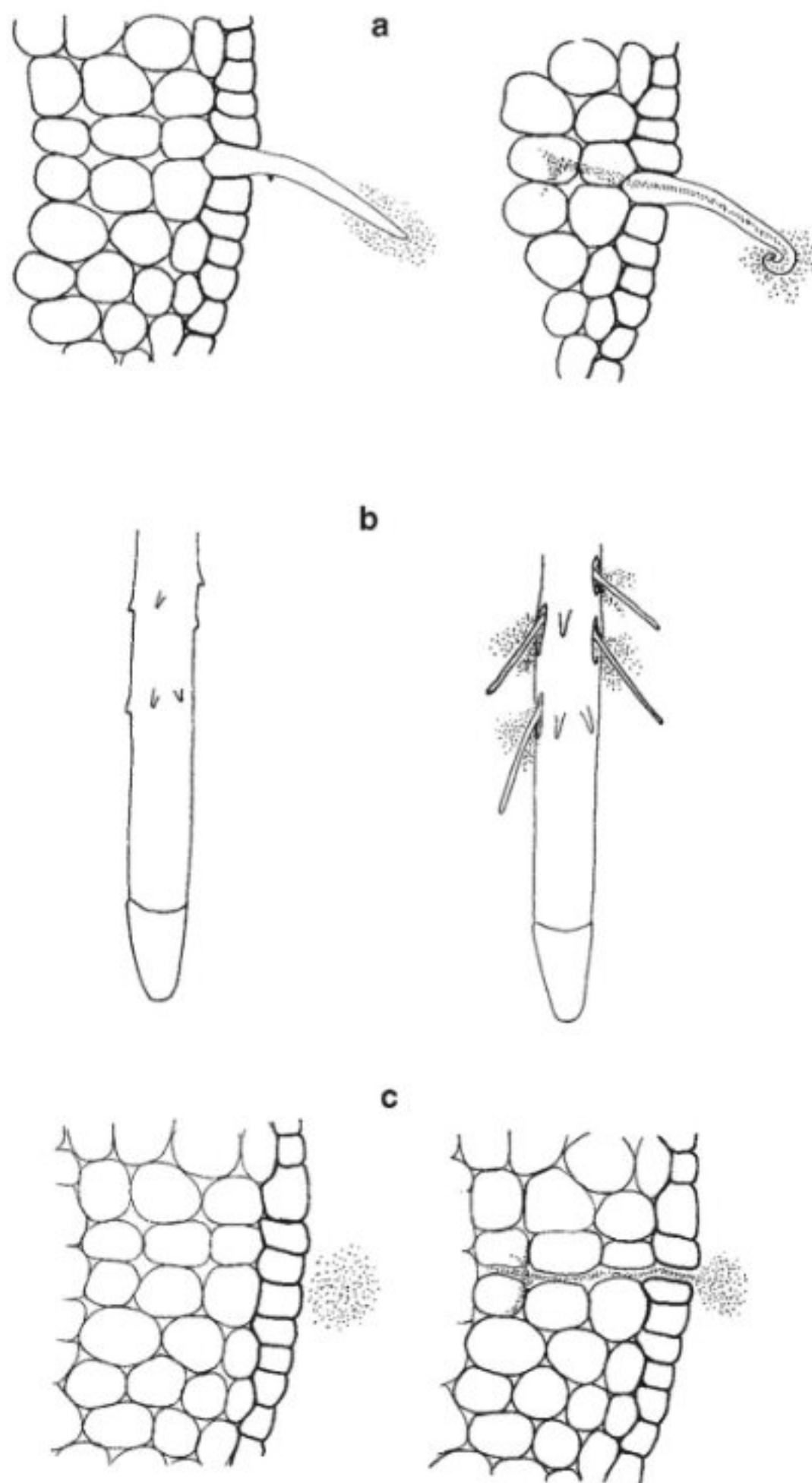


FIGURA 3.2

Tipos de infecção radicular: a- via pêlo radicular; b- via emergência de raízes laterais; c- via epiderme intacta.

formas de penetração na raiz pelo rizóbio. Normalmente, quando a infecção se dá através da emergência das raízes laterais, não há formação de pêlos absorventes. A forma de infecção poderá vir a ser utilizada para caracterizar grupos de leguminosas, auxiliando na definição de suas categorias taxonômicas, uma vez que é determinada pelo hospedeiro.

Como se pode observar, nas três formas básicas de infecção, as bactérias atingem algumas células do córtex radicular que darão origem ao tecido infectado (ver adiante neste capítulo).

A invaginação da parede do pêlo radicular origina a corrente de infecção que contém, em seu interior, uma ou mais fileiras de bactérias e que cresce entre as células corticais e através destas. A corrente de infecção consiste, portanto, em uma nova parede celular, sintetizada pelo hospedeiro, contendo as células bacterianas, que ficam embebidas em uma matriz sintetizada pelos microrganismos, mas que contém também glicoproteínas produzidas pela leguminosa. A parede da corrente de infecção é similar às das demais células do córtex radicular, mas com algumas diferenças, uma vez que enzimas hidrolíticas degradam estas últimas, mas não a primeira (Higashi *et al.*, 1987). A estrutura toda é envolvida pela membrana plasmática da célula epidérmica. Em algumas espécies, notadamente em Papilionoideae avançadas, as bactérias são liberadas da corrente de infecção quando esta atinge uma célula recém-dividida, enquanto, em outras, as bactérias são retidas em correntes permanentes de infecção, denominadas *correntes fixadoras* (Sprent, 2001), como em *Andira* spp., à semelhança do que ocorre no gênero *Parasponia* (Ulmaceae). Nesse caso, as células ficam cheias de correntes fixadoras. O nódulo de *Parasponia* ou de espécies de leguminosas que apresentam correntes fixadoras apresenta dois tipos de correntes: a corrente de infecção, responsável pela infecção de novas células, e a corrente fixadora, que contém as bactérias na forma de *bacteróides*, responsáveis pelo processo da fixação do nitrogênio (ver adiante neste capítulo). A retenção do rizóbio na corrente fixadora é uma característica genotípica do hospedeiro, uma vez que uma mesma estirpe de rizóbio pode ser liberada da corrente de infecção em uma espécie e ser retida na corrente fixadora em outra. A retenção do rizóbio nas correntes fixadoras é considerada um caráter primitivo. Um dado interessante é que as correntes fixadoras foram observadas somente em nódulos de crescimento indeterminado (apresentam meristema na extremidade distal, cuja atividade permite contínuo crescimento) de espécies de hábito arbustivo ou arbóreo coletadas no Brasil, sugerindo uma distribuição geográfica (Naisbitt *et al.*, 1992). Nas leguminosas mais evoluídas, as bactérias são liberadas da corrente de infecção antes do início do processo de fixação.

Em algumas leguminosas, como *Arachis hypogaea* (amendoim), *Dalbergia nigra* (jacarandá-da-baía) e várias espécies de *Stylosanthes* (estilosantes), a infecção ocorre pela ruptura do córtex durante a emergência de raízes laterais, com as células corticais sendo invadidas diretamente, não havendo formação de corrente de infecção. Nesse caso, as bactérias contidas em uma massa indefinida infectam algumas células que formarão um tecido infectado uniforme, composto de células infectadas e poucas células intersticiais ou não-infectadas.

LIBERAÇÃO DO RIZÓBIO E DESENVOLVIMENTO DOS NÓDULOS

Há várias formas de as células originadas do parênquima cortical tornarem-se infectadas. Em alguns nódulos, a corrente de infecção continua se ramificando entre as células corticais e através destas, e as bactérias no seu interior vão se multiplicando e sendo liberadas em algumas células recém-divididas, enquanto um meristema apical permanece ativo mesmo no nódulo desenvolvido. Nesse caso, algumas células (chamadas intersticiais) não são infectadas, e o nódulo resultante é denominado *indeterminado* (Figs. 3.3 e 3.4A), como ocorre em *Lonchocarpus muehlbergianus* (embira-de-sapo), *Mimosa bimucronata* (espinho-de-maricá) e *Anadenanthera falcata* (angico-de-cerrado). Em outros, a corrente de infecção libera as bactérias em células corticais jovens, e estas se dividem. Nesse caso, a formação do tecido infectado se faz pela divisão dessas células já infectadas, não existindo uma região meristemática típica no nódulo desenvolvido, e o nódulo resultante é denominado *determinado* (Fig. 3.4B), como ocorre em *Glycine max* (soja).

A infecção das células pode ocorrer também com a entrada do rizóbio, sem a formação de corrente de infecção, conforme já



FIGURA 3.3
 Sistema radicular de *Lonchocarpus muehlbergianus* (embira-de-sapo) desenvolvida em casa de vegetação, com nódulos de crescimento indeterminado (seta maior). Formação de dois lóbulos na extremidade distal (seta menor), resultante da atividade do meristema apical. (Cordeiro *et al.*, 1996.)

citado, como ocorre em *Stylosanthes* spp. (estilosante) e *Dalbergia nigra* (jacarandá-da-baía).

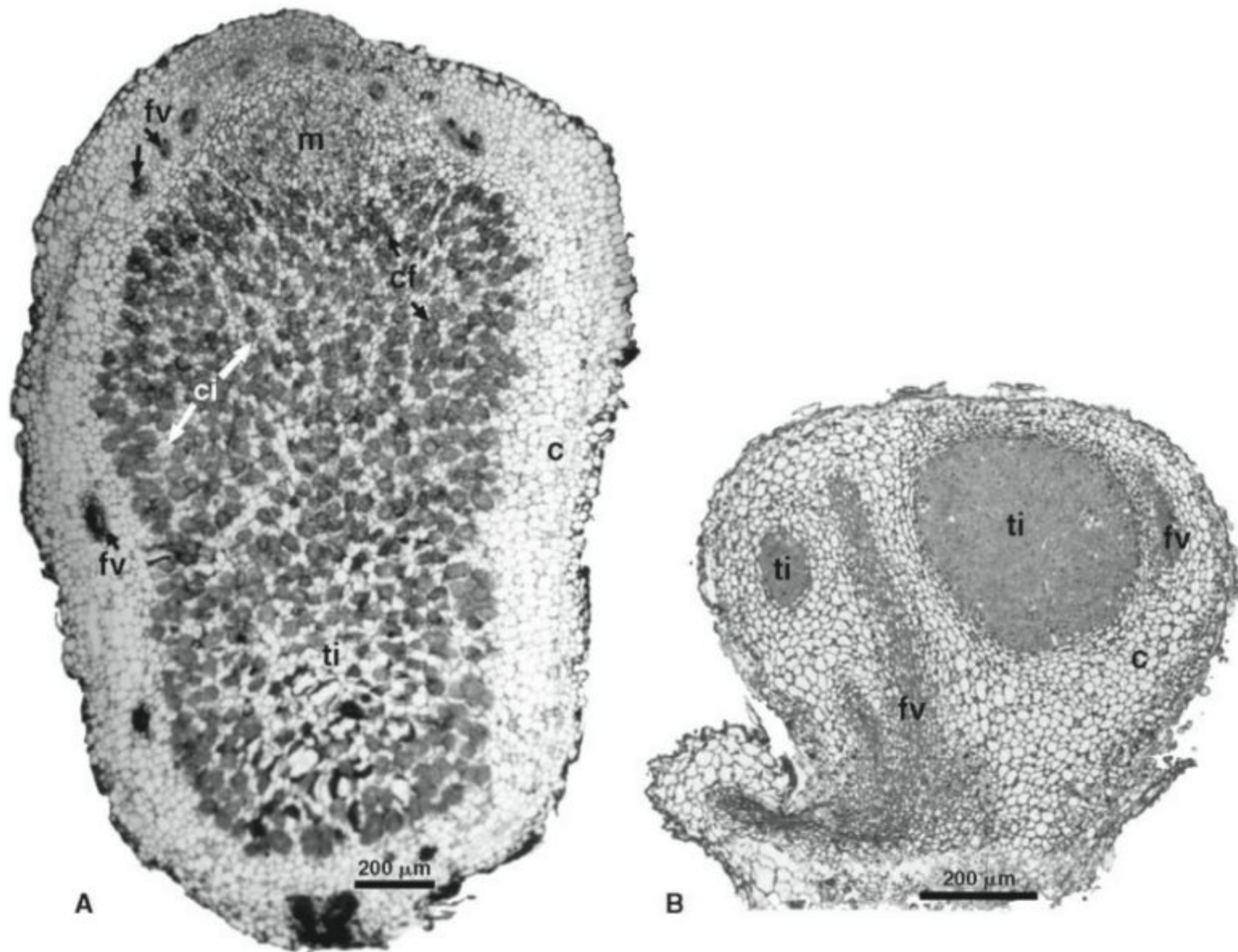
Quando as ramificações da corrente de infecção atingem as células recém-formadas, ocorre lise das paredes nas suas extremidades, com a conseqüente liberação das células bacterianas no interior dessas novas células. A ruptura da parede da corrente de infecção é devida à atividade da celulase induzida pelo rizóbio. Em alguns casos, as bactérias multiplicam-se uma ou duas vezes antes de sua liberação. No local da desintegração das extremidades da corrente de infecção, formam-se vesículas ou bolsas derivadas da membrana citoplasmática que reveste externamente aquela estrutura. O complexo de Golgi e o retículo endoplasmático contribuem com formação adicional de material para formação dessas vesículas. O rizóbio é então liberado em seu interior, sendo embebido por uma matriz. Após serem liberadas da corrente de infecção e pararem de se dividir, as bactérias sofrem transformações morfológicas e fisiológicas, passando a ser denominadas *bacteróides* (Fig. 3.5), responsáveis pelo processo da fixação. Os bacteróides são envolvidos pela membrana peribacteróide ou membrana-envelope, constituindo o *simbiossomo* (Fig. 3.6). Uma célula infectada plenamente desenvolvida contém em seu interior milhares de simbiossomos. Nos bacteróides ocorre a indução dos genes *nif* e *fix* (Sprent, 2001) responsáveis pela síntese do complexo enzimático denominado nitrogenase, enzima que catalisa as reações de redução N_2 a NH_3 .

À medida que os simbiossomos vão sendo formados, tem início a produção de outras proteínas associadas ao processo de fixação, codificadas pelos genes nodulinas tardias. Estas incluem as enzimas adicionais associadas à assimilação da amônia produzida na fixação, a *leg-hemoglobina*, pigmento de coloração avermelhada, cuja função é facilitar o transporte do oxigênio, indispensável à produção de ATP, necessário para a fixação e nitrogenase.

As divisões celulares que ocorrem na área infectada do córtex levam ao desenvolvimento do nódulo, geralmente composto de células poliplóides. Em alguns nódulos, conforme já mencionado, o tecido infectado do nódulo é formado quase exclusivamente por células infectadas, enquanto, em outros, há células não-infectadas ou intersticiais permeando as células infectadas (Fig. 3.4).

À medida que o tecido infectado vai sendo formado, algumas células do córtex radicular entram em divisão, originando o tecido cortical do nódulo. O sistema vascular da raiz se ramifica penetrando no córtex do nódulo. O nódulo apresenta, portanto, um tecido infectado, envolto pelo córtex, que contém feixes vasculares, fibras, numerosas inclusões, bem como um meristema do córtex ou *felogênio*, responsável pela produção de novas células que compõem as camadas mais externas do córtex nodular. O nódulo das demais angiospermas, ao contrário daquele das leguminosas, apresenta a região central ocupada pelo sistema vascular, que é envolvido pelo tecido infectado.

Os nódulos determinados, encontrados nas leguminosas, e indeterminados, encontrados nas leguminosas e demais angiospermas, quando plenamente desenvolvidos, apresentam a organização dos tecidos esquematizada na Fig. 3.8. Como pode ser observado, o tecido infectado ocupa posição central nas legumi-

**FIGURA 3.4**

Aspecto geral do nódulo indeterminado de *Lonchocarpus leucanthus* (A) e determinado de *Dalbergia nigra* (B), ambos seccionados longitudinalmente. c- córtex; ti- tecido infectado; m- meristema apical; fv- feixe vascular; ci- células intersticiais; cf- células infectadas.

nosas e posição periférica nas demais angiospermas, ocorrendo o inverso para o sistema vascular. Este é fechado na extremidade distal, no nódulo determinado, e aberto, no nódulo indeterminado, o qual apresenta um meristema apical, responsável pelo seu contínuo crescimento.

Considerando a associação simbiótica leguminosa–rizóbio, nos estágios iniciais do desenvolvimento do nódulo, a bactéria é beneficiada pela planta; no estágio maduro, ambos se beneficiam: nitrogênio fixado é fornecido para a planta e o carboidrato é fornecido para a bactéria. Após essa fase, fatores ambientais ou o próprio hospedeiro podem provocar a senescência dos nódulos.

Todos os nódulos de leguminosas em atividade fixadora apresentam uma nodulina semelhante à e com a mesma função da hemoglobina chamada leg-hemoglobina, já mencionada, detectada nas células infectadas mesmo antes do início da atividade da nitrificação, já mencionada. A leg-hemoglobina é composta por um grupo heme (como a hemoglobina presente no sangue dos mamíferos) ligado ao grupo protéico correspondente à globina e é encontrada no citossol intimamente associada aos simbiossomos. Portanto, o nódulo funcional apresenta o tecido bacteriano com coloração rosada ou avermelhada contrastando com a ausência dessa coloração dos tecidos restantes, visíveis a olho nu (Fig. 3.8). O nódulo

não-funcional é facilmente reconhecível por apresentar seu interior com coloração branco-amarelada, característica da ausência da leg-hemoglobina. Nos nódulos funcionais, o pigmento pode oxidar-se, determinando o fim do processo.

A mudança de coloração de vermelho para marrom-esverdeado, resultante da oxidação da leg-hemoglobina, é o primeiro sinal visível a olho nu da senescência nodular, que ocorre a partir da região central em nódulos de crescimento determinado e a partir da base nos de crescimento indeterminado. Nesse caso, a base pode deixar de fixar nitrogênio e o ápice continuar produzindo novas células que vão sendo infectadas, tornando-se ativas. Essa graduação de coloração é visível no tecido infectado de um nódulo indeterminado de leguminosa (Figs. 3.7B e 3.8) e de uma angiosperma não-leguminosa (Fig. 3.7C), ambos de crescimento indeterminado. A zonação distinta do tecido infectado dos nódulos indeterminados não ocorre nos nódulos de crescimento determinado (Fig. 3.7A).

O processo de senescência pode também ser desencadeado quando a planta é submetida a condições adversas. No entanto, há informações de que nódulos sempre verdes podem ser funcionais. Portanto, a simples presença de nódulos não significa que o nitrogênio esteja sendo fixado e/ou suprimindo toda a demanda do hospedeiro.

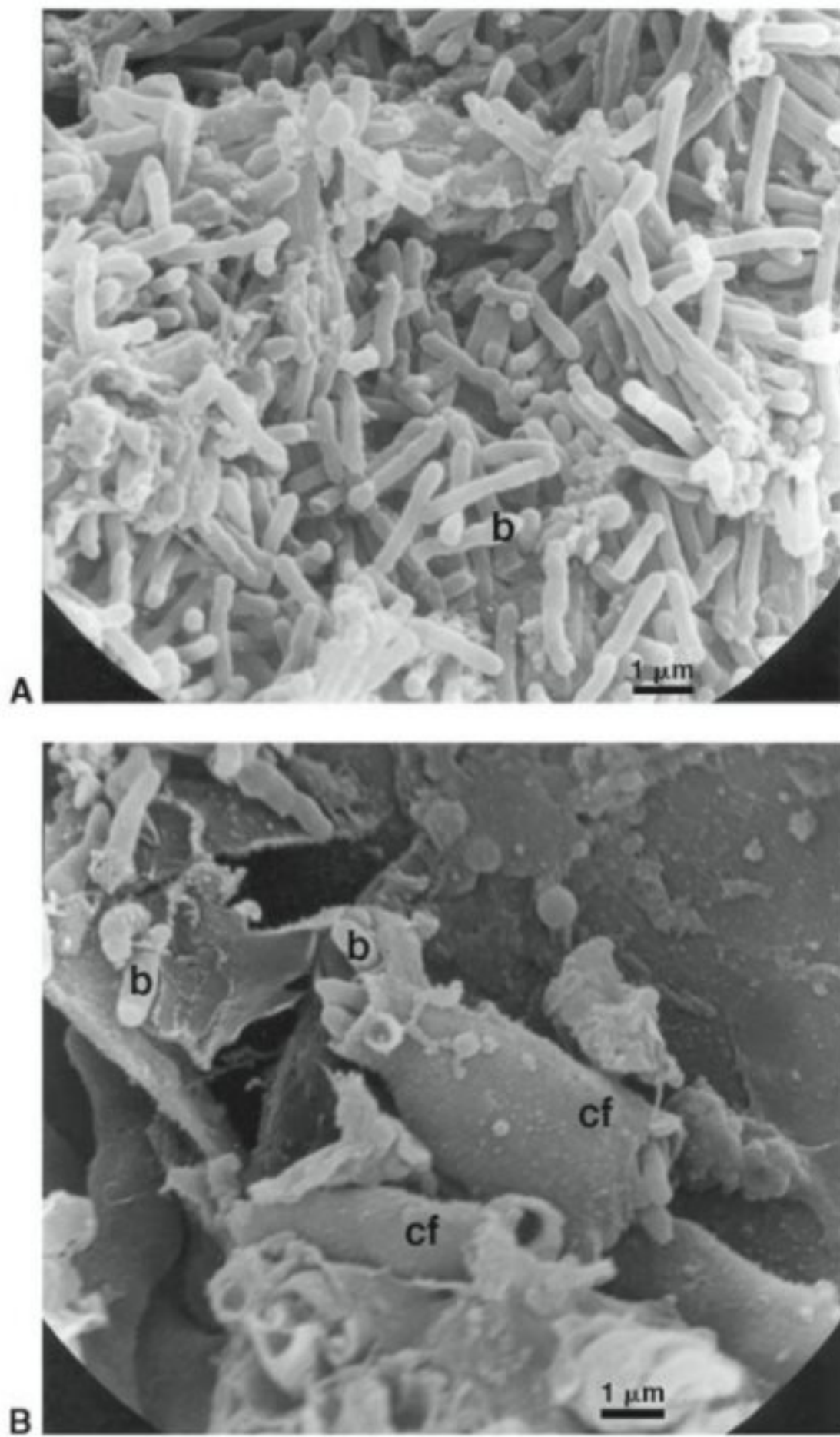


FIGURA 3.5

Elctromicrografias mostrando em A: bacteróide em célula infectada de nódulo de *Lonchocarpus muelhbergianus*; B: corrente fixadora em célula infectada de nódulo de *Tachigalia alba* contendo bacteróide em seu interior. b- bacteróide; cf- corrente fixadora. (Figura B gentilmente cedida por Sérgio Miana de Faria.)

Não se sabe ainda por que nódulos aparentemente em ótimo estado de funcionamento tornam-se senescentes; há, todavia, indícios de que a integridade da membrana-envelope pode estar envolvida. Há evidências de que o simbiossomo possa considerar os bacteróides como patogênicos e agir como um compartimento lítico, desencadeando a degradação dos bacteróides quando o nódulo senesce (Sprent, 2001). Assim, se houver paralisação da fixação do nitrogênio, ocorrerá a degradação do bacteróide.

A leg-hemoglobina é importante para o funcionamento do sistema, uma vez que é responsável pelo transporte e manutenção do nível de O_2 a taxas que permitam, a um só tempo, contemporizar o processo respiratório do bacteróide e o funcionamento da nitrogenase, enzima esta bastante sensível ao O_2 e responsável pelo processo da fixação do nitrogênio atmosférico. Em soja e

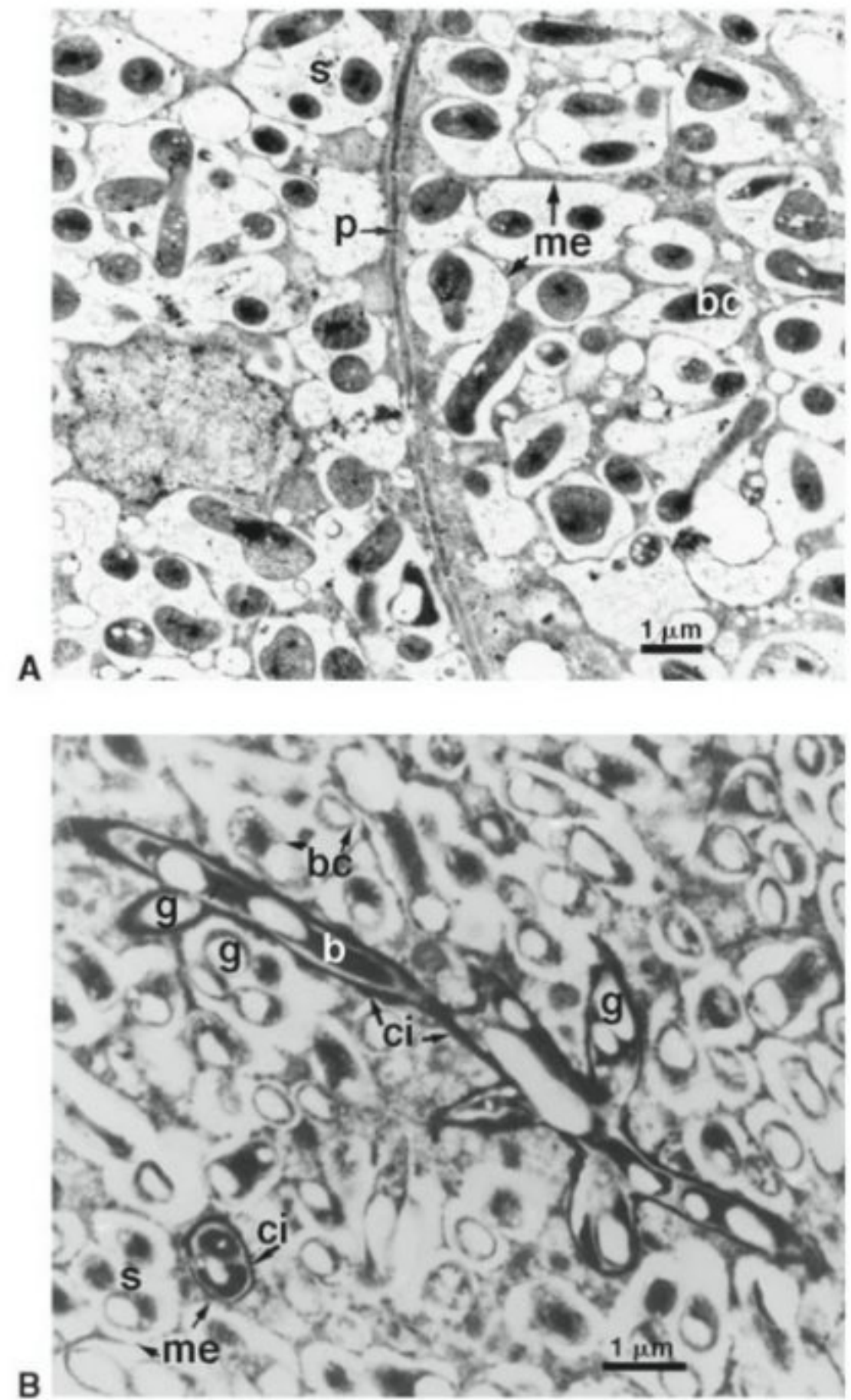
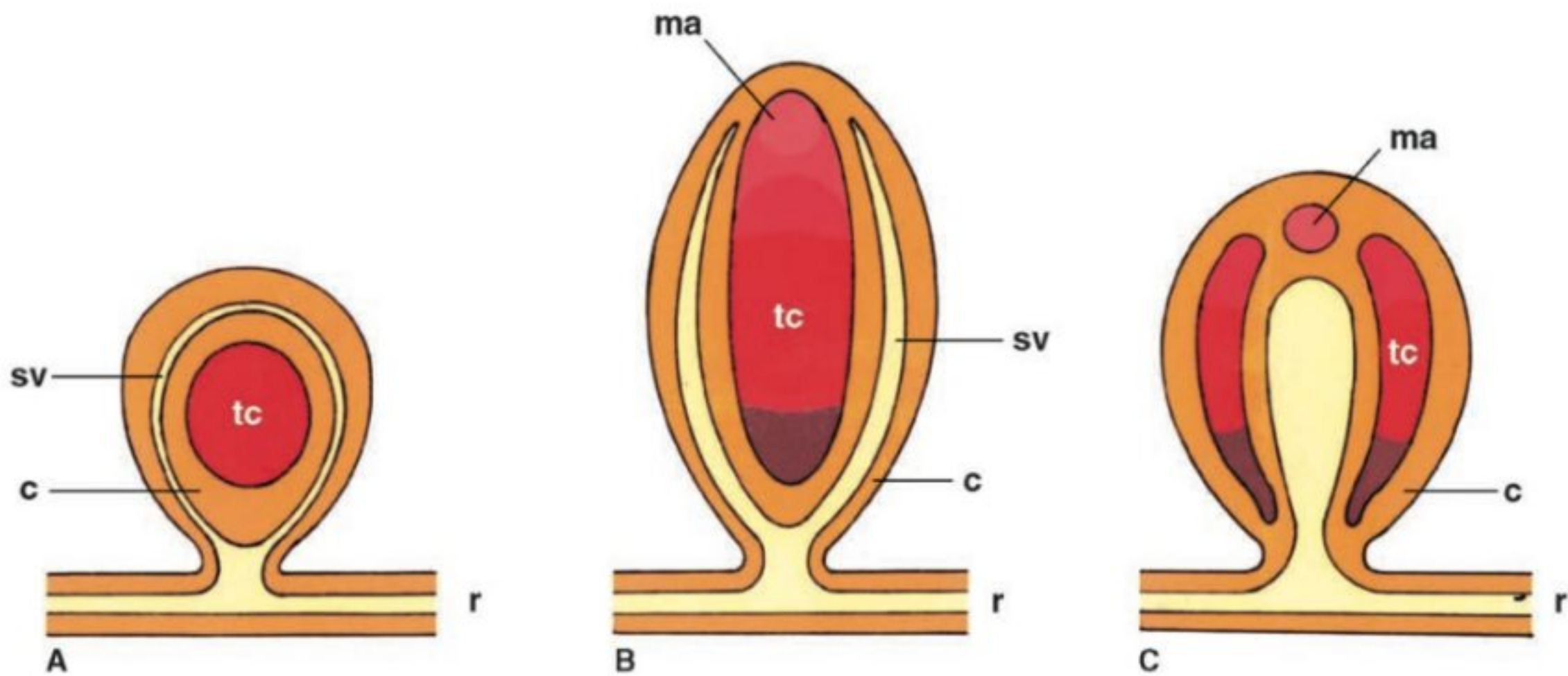


FIGURA 3.6

Células infectadas de *Tipuana tipu* (A) e de *Lonchocarpus leucanthus* (B). p- parede celular; b- bactéria; bc- bacteróide; me- membrana-envelope; g- grânulo de ácido β -hidroxibutírico; ci- corrente de infecção; s- simbiossomo.

ervilha, a síntese da nitrogenase ocorre, normalmente, logo após a liberação da bactéria da corrente de infecção.

A nitrogenase pode ser oxidada pelo O_2 , tornando-se inativa. Essa inativação ocorre pela desnaturação dos polipeptídios. Os diferentes sistemas e organismos fixadores de nitrogênio apresentam mecanismos estruturais ou fisiológicos para manter baixa tensão de oxigênio ao redor da nitrogenase a fim de evitar sua inativação. Considerando os nódulos de leguminosas, a leg-hemoglobina controla, em parte, a disponibilidade do O_2 junto ao bacteróide. No entanto, algumas características estruturais do nódulo, especialmente ligadas ao córtex, como endoderme, fibras, esclereídes e inclusões de glicoproteínas nos espaços intercelulares, atuam como uma barreira à difusão de gás, regulando o suprimento de oxigênio para o tecido infectado, desempenhando um papel importante na proteção da nitrogenase. Dessa forma, a presença da hemoglobina nas células do tecido infectado e a resistência à difusão do oxigênio, localizada principalmente no

**FIGURA 3.7**

Esquema da estrutura de nódulos de leguminosas determinado (A) e indeterminado (B), resultantes da associação com rizóbio, e indeterminado de angiosperma não-leguminosa (C), resultante da associação com actinomiceto. r- raiz; c- córtex; sv- sistema vascular; tc- tecido infectado; ma- meristema apical. O tecido infectado dos nódulos indeterminados apresenta uma zonação que indica diferentes estágios de desenvolvimento das células infectadas: células recém-infectadas logo abaixo do meristema apical se desenvolvem, ficando plenamente aptas a fixar o nitrogênio (região intermediária). Quando velhas, constituem a parte basal do tecido tornando-se não-funcionais (região basal). Essa zonação não é observada no nódulo determinado.

córtex nodular, compõem um excelente mecanismo de proteção à nitrogenase.

Já entre os organismos fixadores de vida livre, as cianobactérias, que possuem heterocisto, apresentam a parede celular modificada, restringindo a difusão do oxigênio. Como o processo da fixação do nitrogênio ocorre naquela estrutura, há uma separação espacial entre a nitrogenase e demais processos que envolvem a utilização do oxigênio. Nas cianobactérias que não apresentam heterocisto, como *Gloeocapsa*, ocorreria uma separação temporal entre o processo da fixação, uma vez que a atividade da nitrogenase é maior durante o período de divisão celular, quando a produção de oxigênio oriundo da fotossíntese é mínima. Entre as bactérias, a maioria dos gêneros é ativa sob condições anaeróbicas ou de baixa concentração de oxigênio (microaerofilia). Os membros da família Azotobacteriaceae constituem exceção a essas condições, uma vez que apresentam um sistema de membrana contínuo à membrana celular, formam nichos distintos e a nitrogenase estaria localizada em um deles e protegida da inativação pelo oxigênio. Outro mecanismo apresentado em especial pelo *Azotobacter* seria um processo denominado *proteção respiratória*. Nesse caso, a célula bacteriana pode adaptar seu metabolismo a diferentes tensões de oxigênio de tal forma que a pressão parcial de oxigênio (pO_2) ótima para a fixação de nitrogênio seria aquela na qual a bactéria se desenvolveu. No caso de *Frankia*, a proteção se faz pelo espessamento da parede das vesículas, explicado no início deste capítulo.

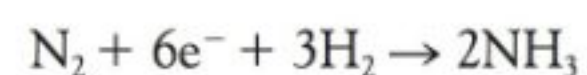
Considerando o processo todo desde a infecção até o funcionamento do nódulo, a associação pode ser caracterizada como efetiva ou inefetiva e eficiente ou ineficiente. No primeiro caso,

refere-se à capacidade de infecção e desenvolvimento da estrutura nodular. No segundo, considera-se o processo do ponto de vista fisiológico, incluindo a presença do pigmento leg-hemoglobina e da enzima nitrogenase. Muitas vezes, uma bactéria pode ser efetiva e/ou eficiente em uma planta e inefetiva e/ou ineficiente em outra, variando quanto ao grau de eficiência. Em associações ineficientes, os nódulos são iniciados, mas não há fixação. Eles são pequenos, e as plantas geralmente mantêm-se pequenas e cloróticas. Nesse caso, pode-se considerar a nodulação, do ponto de vista funcional, como um caso de parasitismo.

Em todas as leguminosas, independentemente do tipo de nódulo, a fixação de nitrogênio não começa até que a planta possa dispor de parte dos produtos da fotossíntese que deverão ser canalizados para essa atividade, ou, então, que haja um excesso de carbono (C) em relação ao nitrogênio (N) da planta. O mecanismo de regulação da atividade de fixação simbiótica seria a relação C/N interna.

Bioquímica e fisiologia da fixação do nitrogênio

A grande estabilidade da molécula de nitrogênio resultante de sua estrutura molecular faz dela um gás não-reativo a temperaturas ambientes. Assim, considerável quantidade de energia é requerida para quebrar a tripla ligação dessa molécula com a produção de amônia (NH_3), em uma reação exotérmica ($G = -33,39 \text{ KJ mol}^{-1}$), isto é:



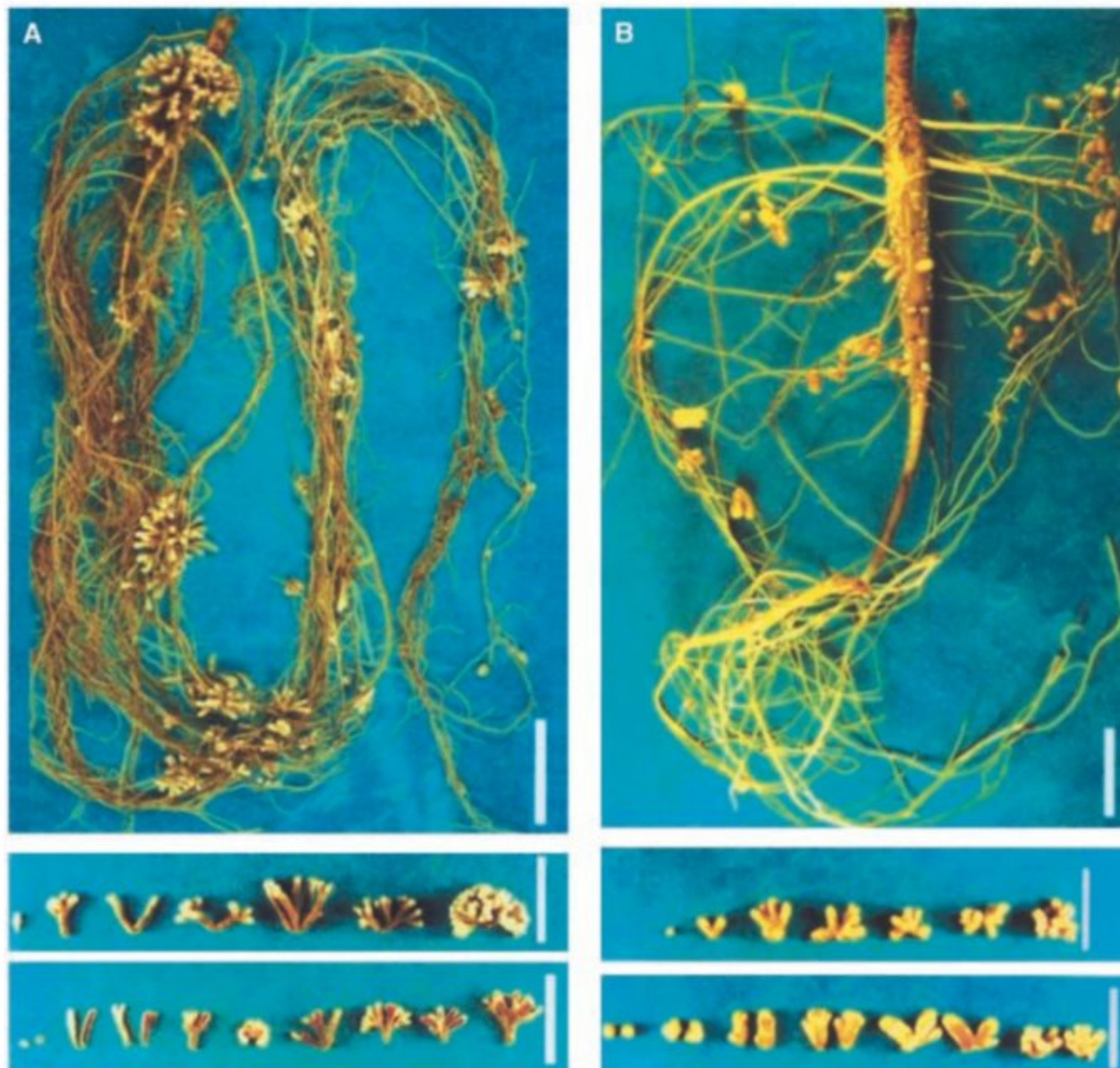
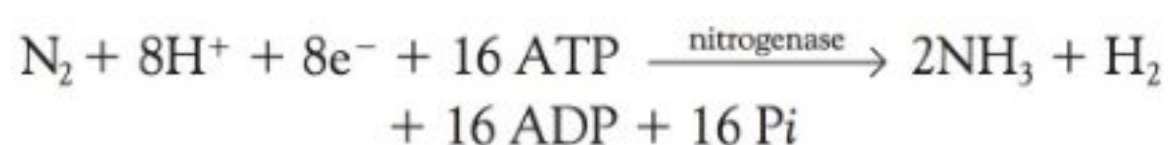


FIGURA 3.8

Raízes noduladas de *Mimosa bimucronata* (A) e *Lonchocarpus muehlbergianus* (B) com 120 dias de idade. Figuras superiores: distribuição dos nódulos no sistema radicular; figuras medianas: nódulos em diferentes estádios de desenvolvimento; figuras inferiores: nódulos seccionados longitudinalmente mostrando a coloração interna devido à presença de leg-hemoglobina. Os nódulos de *M. bimucronata* são vermelhos internamente e mostram a zonação característica do tecido infectado de nódulo indeterminado. Essa coloração não é tão evidente nos nódulos de *L. muehlbergianus*. Escala: 2 cm. (Figuras gentilmente cedidas por Camila Maistro Patreze.)

No processo da fixação, a tripla ligação que existe entre os átomos de nitrogênio é rompida, e cada um se liga a três átomos de hidrogênio, utilizando energia despendida pelo ATP, que, nos sistemas simbióticos, é formado da queima dos produtos da fotossíntese (ver Cap. 7, Respiração). Nos sistemas conhecidos, a fixação biológica do nitrogênio dá-se segundo a equação:



A utilização da amônia assim formada pela planta será apreciada no Cap. 4, Metabolismo do Nitrogênio.

Para que ocorra o processo, é necessária a presença imprescindível não só da enzima nitrogenase, como também de redutores fortes, como ferredoxina e flavodoxina, de ATP,

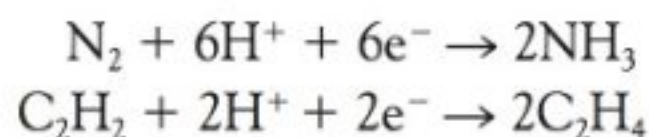
de uma via assimilatória de NH_3^* e, em bactérias aeróbicas, de proteção do sistema de fixação do nitrogênio da desnaturação provocada pelo oxigênio. O processo requer, portanto, uma fonte de elétrons, prótons e de ATP. Observa-se que a leg-hemoglobina não é essencial para que a fixação ocorra em alguns sistemas simbióticos. No entanto, sua presença nos nódulos de leguminosas aumenta a eficiência da fixação do nitrogênio por suprir o simbionte com o O_2 necessário à sua respiração e, ao mesmo tempo, evitar a inativação da nitrogenase pelo oxigênio.

*Tão logo a amônia (NH_3) é formada, ela é instantaneamente protonada (H^+), convertendo-se assim em amônio ou íon amoniacal (NH_4^+), constituindo-se na forma de fato encontrada nas células, ou em qualquer outro ambiente aquoso.

TABELA 3.1
Reações catalisadas pela nitrogenase

Substrato/Nome	Produto/Nome
N ₂ dinitrogênio	2NH ₃ amônia
N ₃ ⁻ (azida)	N ₂ , NH ₃
N ₂ O óxido nitroso	N ₂ , H ₂ O
C ₂ H ₂ (acetileno)	C ₂ H ₄ (etileno)
2H ⁺ (íon hidrogênio)	H ₂
HCN	CH ₄ (metano), NH ₃
CH ₃ CN (metilisocianida)	C ₂ H ₆ , CH ₃ NH ₂ (metilamina), NH ₃
H ₂ NCN (cianamida)	C ₃ H ₆ (ciclopropano), NH ₃
C ₃ H ₄ (ciclopropeno)	C ₃ H ₆

Parece haver obrigatoriedade na relação de um H₂ formado para cada N₂ reduzido. A nitrogenase catalisa não só a redução do nitrogênio, mas também a de vários outros compostos (Tabela 3.1), incluindo a redução do acetileno a etileno. Esta última reação é a base da técnica para estimar a taxa de fixação do nitrogênio pela medida da redução do acetileno por cromatografia gasosa. Considerando as reações de redução do nitrogênio molecular a amônia e do acetileno a etileno, ou seja,



verifica-se que são necessários 2 elétrons para a redução do acetileno e 6 para reduzir o N₂ a 2NH₃. Portanto, cada 3 moles de acetileno reduzidos pela nitrogenase correspondem a 1 mol de N₂ fixado, e essa relação é utilizada para calcular a atividade da nitrogenase na técnica de redução do acetileno.

Os carboidratos translocados das folhas para os nódulos, na forma de sacarose, compõem a fonte de prótons e elétrons. A utilização da sacarose pelo nódulo começa com sua hidrólise pela ação da invertase, produzindo glicose e frutose. No entanto, a sintase de sacarose, também envolvida na hidrólise da sacarose, foi detectada em nível elevado em nódulos de leguminosas e de angiospermas não-leguminosas (nódulos actinorrízicos). A oxidação da sacarose leva à redução do NAD⁺ a NADH⁺ ou NADP⁺ a NADPH⁺. Em alguns organismos fixadores, a oxidação do piruvato durante a respiração causa a redução da flavodoxina. Assim, o NADH⁺, NADPH⁺ ou a flavodoxina podem reduzir a ferredoxina, que, por sua vez, transfere os elétrons para a nitrogenase, catalisando a fixação do nitrogênio. A nitrogenase presente nos organismos fixadores é composta de duas proteínas, individualmente conhecidas como molibdeno-ferro proteína, dinitrogenase ou, simplesmente, nitrogenase (aproximadamente 240 K-Da) e ferro-proteína ou nitrogenase redutase (aproximadamente 64 K-Da). A primeira é formada de 4 subunidades com 24 a 32 átomos de ferro e 1 a 2 de molibdênio. A segunda tem 4 átomos de ferro e 2 subunidades. A Mo-Fe-proteína é codificada pelos genes *nifD* e *nifK*, enquanto a Fe-proteína o é pelo gene *nifH*. Os genes para a nitrogenase e para especificidade de nodulação estão

localizados em plasmídeos de alto peso molecular em *Rhizobium*, ou no cromossomo bacteriano em espécies de *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*. O complexo enzimático todo, englobando as duas subunidades, é denominado genericamente de nitrogenase.

Ambas as proteínas participam do processo de óxido-redução, agindo independentemente em reações acopladas, envolvendo oxidação de Mo⁺⁴ a Mo⁺⁶. Tanto o ferro quanto o molibdênio são reduzidos quando a nitrogenase recebe elétrons da ferredoxina, e são oxidados quando a enzima transfere os elétrons para o N₂, formando NH₃. O ATP é essencial no processo porque, com sua ligação na Fe-proteína, esta passa a agir como um forte redutor. Por sua vez, a Fe-proteína transfere os elétrons para Fe-Mo-proteína com subsequente hidrólise do MgATP liberando MgADP + Pi. Esta última completa a transferência dos elétrons ao N₂ e para os prótons com a produção de duas moléculas de NH₃ e uma de H₂ (Fig. 3.9).

Tão logo a amônia é formada, ela é imediatamente protonada (H⁺), convertendo-se assim em amônio ou íon amoniacal (NH₄⁺), constituindo-se na forma de fato encontrada nas células, ou em qualquer outro ambiente aquoso. Em seguida é transportada para o citossol da célula, onde é utilizada na produção de amidas ou ureídes, quando finalmente é levada para fora do nódulo pelo xilema (ver Cap. 4, Metabolismo do Nitrogênio).

Sob condições normais, ocorre também a produção de H₂ a partir da redução do H⁺ existente no citossol da célula infectada. Esse processo redutor acaba competindo com o próprio N₂ pelo recebimento de elétrons oriundos da atividade da nitrogenase. Dessa forma, para a produção de H₂, gasta-se energia que poderia ser utilizada na fixação de nitrogênio, diminuindo assim a eficiência desse processo. No entanto, a maioria dos rizóbios e espécies intimamente relacionadas de bactérias fixadoras de vida livre contêm a enzima hidrogenase, que oxida o H₂ a H₂O antes que ele escape, regenerando elétrons que poderão ser utilizados na redução do N₂.

O estágio de crescimento também influi na fixação. Plantas como *Glycine max* (soja), *Arachis hypogaea* (amendoim), dentre outras, todas possuidoras de sementes ricas em proteínas, apresentam atividade máxima da fixação após o florescimento, quando há maior demanda para produção de frutos e sementes. Nessas espécies, cerca de 90% da fixação ocorrem nesse período, e o restante, nos 2 primeiros meses de desenvolvimento vegetativo. Para leguminosas perenes ou espécies agrícolas com várias estações de crescimento, a fixação é maior durante o estágio reprodutivo. A quantidade de nitrogênio fixada nessas espécies pode ser maior do que nas anuais, uma vez que os nódulos de muitas delas são perenes e a fixação pode reiniciar com a chegada de nova estação de crescimento.

A taxa de fixação geralmente é maior no início da tarde, quando a translocação de açúcar das folhas para os nódulos ocorre mais rapidamente. A alta taxa de transpiração que ocorre no período da manhã associada à corrente transpiratória auxilia a remoção dos compostos nitrogenados das raízes e dos nódulos.

A fixação do nitrogênio contribui com cerca de 25 a 50% do nitrogênio total das sementes de leguminosas desenvolvidas em solo fértil. O restante é absorvido do solo como NO₃⁻ ou

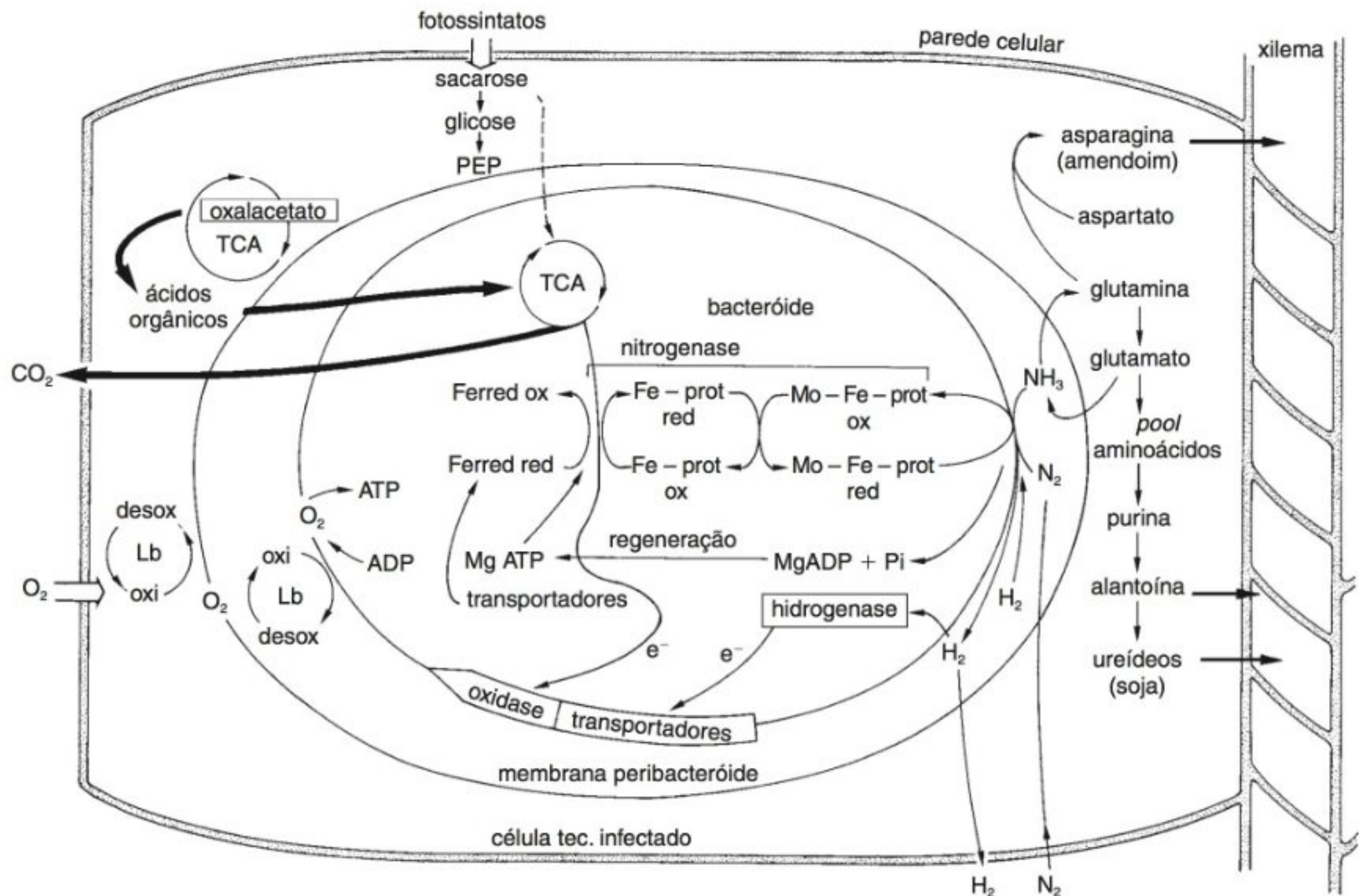


FIGURA 3.9

Representação do processo da fixação do nitrogênio que ocorre no interior de uma célula infectada. A nitrogenase está representada pelas duas proteínas: Fe-proteína e Mo-Fe-proteína, nas formas oxidada (ox) e reduzida (red). O esquema representa os processos que ocorrem no citossol da célula do hospedeiro (retângulo), no interior do simbiossomo (círculo maior) e no bacteróide (círculo menor). Lb-leg-hemoglobina; Ferred-ferredoxina; TCA- ciclo dos ácidos tricarbóxicos; PEP- fosfoenolpiruvato. (Bergensen, 1982, modificado.)

NH_4^+ , principalmente durante o período vegetativo. A fixação do nitrogênio não é aumentada com a adição de fertilizantes nitrogenados, principalmente na forma de nitrato, uma vez que isso pode provocar uma redução na taxa de fixação. No entanto, em solos pobres em nitrogênio, a adubação nitrogenada pode favorecer o início do desenvolvimento da planta, até que os nódulos estejam aptos a iniciar o processo. Fertilizantes à base de nitrato podem provocar uma inibição da adesão do rizóbio nos pêlos radiculares, impedir a formação da corrente de infecção, reduzir o desenvolvimento dos nódulos, inibir a fixação em nódulos já desenvolvidos e acelerar o processo de senescência nodular (Streeter, 1998).

Como já mencionado, o produto da fixação biológica do nitrogênio é a amônia (NH_3), mas sua presença inibe a síntese da nitrogenase. Assim, é quase certo que, uma vez produzida, a amônia seja imediatamente protonada, produzindo NH_4^+ , que é transferido para o citossol das células infectadas. Em seguida, o amônio é utilizado na síntese de compostos nitrogenados que serão exportados até as células do periciclo do sistema vascular (localizado no córtex dos nódulos). Muitas espécies apresentam células de transferência no periciclo cuja função é secretar ativamente os compostos nitrogenados produzidos nos nódulos para

o interior dos vasos condutores do xilema, que os transportam para a parte aérea da planta. Portanto, a forma e a quantidade dos compostos nitrogenados exportados dependem da espécie vegetal e da eficiência da simbiose estabelecida.

REFERÊNCIAS

- Bergensen FJ. *Root Nodules of Legumes: Structure and Functions*. New York, John Wiley & Sons, 1982, 164p.
- Bruijn FJ, Chen R, Fujimoto SY, Pinaev A, Silver D, Szczyglowski K. Regulation of nodulin gene expression. *Plant and Soil*, 1994; 161:59-68.
- Bruijn FJ, Jing Y, Dazzo FB. Potential and pitfalls of trying to extend symbiotic interactions of nitrogen-fixing organisms to presently non-nodulated plants as such as rice. *Plant and Soil*, 1995; 174:225-240.
- Higashi S, Kushiyama K, Abe M. Electron microscopic observations of infection threads in driselase treated nodules of *Astragalus sinicus*. *Can. J. Microbiol*, 1987; 32:947-952.
- Mylona P, Pawlowski K, Bisseling T. Symbiotic nitrogen fixation. *The Plant Cell*, 1995; 7:869-885.
- Naisbitt T, James EK, Sprent JI. The evolutionary significance of the legume genus *Chamaecrista*, as determined by nodule structure. *New Phytol*, 1992; 122:487-492.

- Neves MCP, Rumjanek NG. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. In: Melo IS, Azevedo JL. *Ecologia Microbiana*. Jaguariúna — EMBRAPA-CNPMA, 1998, p.15-60.
- Pueppke SG. The genetic and biochemical basis for nodulation of legumes by rhizobia. *Crit Rev Biotechn*, 1996; 16:1-51.
- Salisbury FB, Ross CW. *Plant Physiology*. Belmont, Wadsworth, 1991, 682p.
- Siqueira JO, Franco AA. *Biotecnologia do Solo- Fundamentos e Perspectivas*. Brasília, MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, 1988.
- Sprent JI. *Nodulation in Legumes*. Kew, Royal Botanic Gardens, 2001, 146p.
- Streeter J. Inhibition of legume nodule formation and nitrogen fixation by nitrate. *Crit Rev Plant Sci*, 1998; 7:1-23.
- Trinick MJ, Hadobas PA. Formation of nodular structures on the no-legumes *Brassica napus*, *B. campestris*, *B. juncea* and *Arabidopsis thaliana* with *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* isolated from *Parasponia* spp or legumes grown in tropical soils. *Plant and Soil*, 1995; 172:207-219.
- Cordeiro L, Sprent JI. Some aspects of nodulation and nodule anatomy of *Dalbergia nigra* Allem inoculated with rhizobia isolated from members of the tribe Dalbergieae and Millettieae (Tephrosieae). *Naturalia*, 1996; 21:23-30.
- Cordeiro L, Sprent JI, McInroy SG. Some developmental and structural aspects of nodules of *Lonchocarpus muelhbergianus* Hassl. *Naturalia*, 1996; 21:9-22.
- Faria SM, McInroy SG, Sprent JI. The occurrence of infected cells, with persistent infection threads, in legume root nodules. *Can J Bot*, 1987; 65:553-558.
- Gross E, Cordeiro L, Caetano FH. Nodule ultrastructure and initial growth of *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *falcata* (Benth) Altschul plants infected by rhizobia. *An Bot*, 2002; 90:175-183.
- Newcomb W. Nodule morphogenesis and differentiation. *Intern Rev Cytol*, 1981; 13:247-291.
- Sprent JI. *The biology of nitrogen-fixing organisms*. Maidenhead, McGraw-Hill, Book Co, 1979, 196p.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Barry AM. Recent developments in the actinorhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 1994; 161:135-145.
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville, American Society of Plant Physiologists, 2000, 1367p.

CAPÍTULO 4

Metabolismo do Nitrogênio

Ladaslav Sodek

INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) figura entre os elementos minerais mais abundantes nas plantas e é, freqüentemente, um dos principais fatores limitantes para seu crescimento. É encontrado em moléculas importantes, como proteínas e os ácidos nucléicos, RNA e DNA. Plantas, ao contrário de animais, têm a capacidade de assimilar o N inorgânico do ambiente e sintetizar todos os 20 aminoácidos encontrados em proteínas, bem como todos os outros compostos orgânicos nitrogenados utilizados por elas.

O N inorgânico disponível no meio ambiente inclui o N do ar e o N mineral, este último representado pelo nitrato e amônia presentes no solo. O N do ar não é aproveitável diretamente pela planta, mas incorporado com ajuda de microorganismos, através de processo simbiótico (ver Cap. 3, Fixação do Nitrogênio).

Tanto o nitrato (NO_3^-) quanto a amônia (presente em solução na forma do íon amônio, NH_4^+) são prontamente utilizados pela planta, embora, na maioria dos solos, o NH_4^+ seja rapidamente oxidado a NO_3^- por bactérias nitrificadoras. O NH_4^+ prevalece em solos ácidos ou em áreas com vegetação cujas raízes exsudam inibidores do processo de nitrificação, como planícies de gramíneas e florestas de coníferas. A nitrificação também é prejudicada em solos compactados ou alagados, em função da baixa disponibilidade de oxigênio. A Fig. 4.1 resume a inter-relação entre as principais fontes de N para as plantas. São duas as fontes de NH_4^+ no solo: a fixação (não-simbiótica) do N atmosférico e a degradação da matéria orgânica, resultante, principalmente, da incorporação da vegetação morta. Os dois processos envolvem a ação de microorganismos do solo, porém são processos lentos, principalmente o primeiro. A incorporação de matéria orgânica no solo é uma prática comum na agricultura. A chamada adubação verde é a prática pela qual uma leguminosa é cultivada para realizar a incorporação de grandes quantidades de N atmosférico pelo

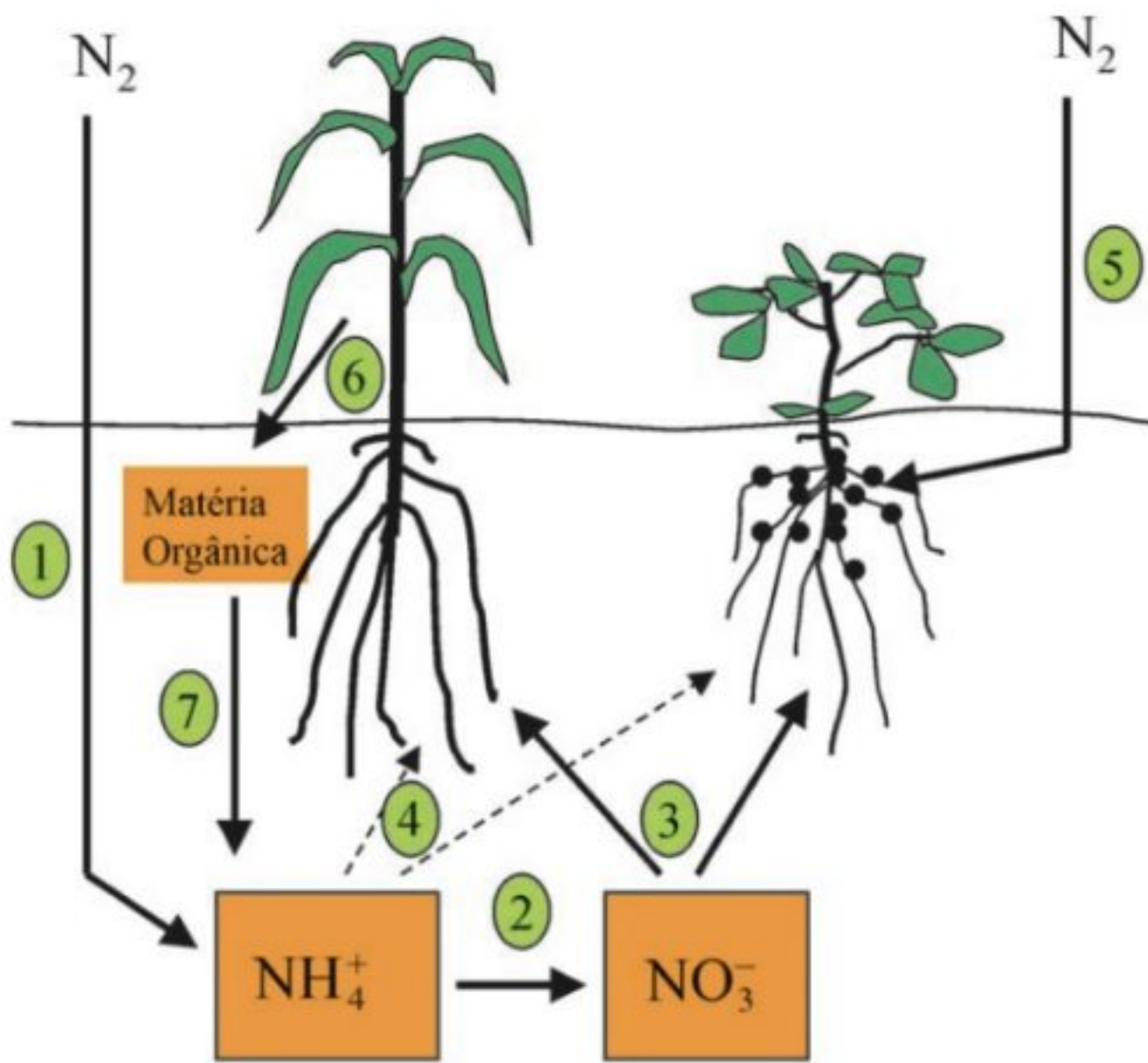
processo de fixação simbiótica de N e, em vez de ser colhida, ela é incorporada ao solo para que a matéria orgânica seja degradada e o N transformado em NH_4^+ . Como a maior parte do N presente na leguminosa foi tirada da atmosfera e não do solo, é grande o ganho em N no solo adubado dessa maneira.

Entretanto, para o crescimento de culturas melhoradas para alta produtividade, é comum o agricultor usar a adubação mineral, com a aplicação de altas doses de sais de NH_4^+ ou mesmo NO_3^- . O NH_4^+ (na forma de sulfato de amônio, por exemplo) tem a vantagem sobre o NO_3^- por ser pouco lixiviado e, portanto, ter pequena perda e, conseqüentemente, não poluir o lençol freático. A capacidade de troca catiônica do solo faz com que o NH_4^+ tenha pouca mobilidade no perfil do solo, ao contrário do NO_3^- . De qualquer forma, no solo o NH_4^+ é transformado em NO_3^- pelo processo de nitrificação. Tais características tornam o NO_3^- a forma predominante de N para muitas plantas.

Após absorção pela planta, o N inorgânico precisa ser incorporado, ou "assimilado", na forma orgânica. Após assimilação, o N é utilizado principalmente nos chamados *sítios de consumo* da planta, ou seja, nos tecidos em rápido crescimento (folhas em expansão, meristemas, pontas de raiz) e armazenamento de reservas (sementes). A assimilação de N inorgânico em forma orgânica, sua subsequente distribuição pela planta e a utilização nos sítios de consumo são processos integrados. Uma visão global desses processos é dada na Fig. 4.2.

ABSORÇÃO DO N INORGÂNICO DO SOLO

O NH_4^+ é absorvido pelas raízes por processo ativo, quando a concentração externa é baixa, e por processo passivo em altas concentrações. O processo ativo é mediado por uma proteína

**FIGURA 4.1**

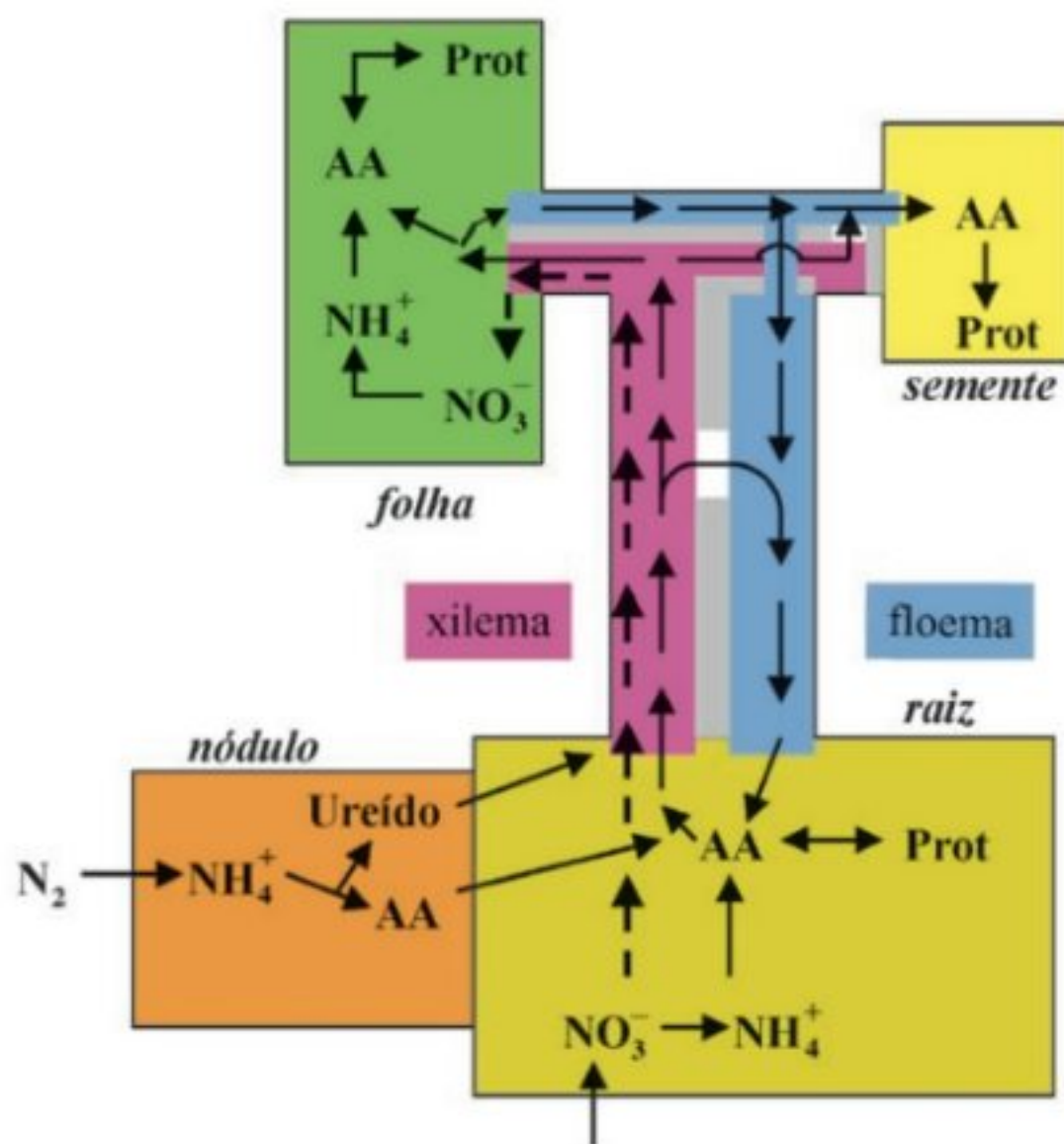
A inter-relação das principais fontes de N para plantas, representadas por uma gramínea e uma leguminosa nodulada.

1. Fixação não-simbiótica do N atmosférico (bactérias do solo).
2. Nitrificação (bactérias do solo).
3. Absorção do NO_3^- pela planta (normalmente a predominante).
4. Absorção de NH_4^+ pela planta (predomina apenas em condições específicas).
5. Fixação simbiótica do N atmosférico (bactérias presentes em nódulos).
6. Incorporação de matéria orgânica no solo.
7. Degradação de compostos nitrogenados (microorganismos).

transportadora localizada na membrana. Após absorção, o íon é rapidamente assimilado na forma orgânica, que não deixa de ser um processo de destoxificação, tendo em vista que o acúmulo de NH_4^+ pode prejudicar a planta. De fato, o cultivo com alta concentração de NH_4^+ pode levar à morte da planta, porém as concentrações toleradas variam de espécie para espécie.

O NO_3^- , ao contrário do NH_4^+ , é absorvido pelas raízes apenas por processo ativo. A cinética de absorção do NO_3^- apresenta uma curva de saturação do tipo Michaelis e Menten, descrita para enzimas, já que o processo é mediado por uma proteína transportadora localizada na membrana. Essa proteína liga-se ao NO_3^- do meio externo formando um complexo, da mesma forma que uma enzima se liga ao substrato, e, em seguida, lança o íon para o lado interno da membrana, um processo análogo à formação do produto da reação enzimática. Portanto, existe um K_m para o processo de absorção do íon com o mesmo significado do K_m de um substrato de uma reação enzimática, ou seja, quanto mais alto o K_m , maior a concentração de íons (ou substrato) necessária para saturar o sistema.

A cinética de absorção do NO_3^- em cevada sugere a existência de três sistemas distintos, cada um com seu K_m . Um sistema, aparentemente constitutivo, é de baixa afinidade (K_m alto) e funciona apenas em concentrações elevadas de NO_3^- . Os outros dois são de alta afinidade e operam com eficiência quando a concentração externa de NO_3^- é baixa. Um destes dois últimos sistemas (K_m para $\text{NO}_3^- = 7 \mu\text{M}$) é constitutivo, enquanto o outro (K_m para $\text{NO}_3^- = 15$ a $34 \mu\text{M}$) é induzido pelo NO_3^- . A indução pode ser demonstrada experimentalmente, bastando simplesmente medir a absorção em baixas concentrações de NO_3^- após prévia exposição das raízes por tempo e concentrações crescentes do íon. As raízes induzidas dessa forma passam a absorver baixas concentrações de NO_3^- com maior velocidade em comparação com as plantas não-induzidas. O significado desses três mecanismos distintos de absorção é a adaptação da planta para ambientes pobres e ricos em NO_3^- . Entretanto, pouco se sabe das proteínas de membrana envolvidas no transporte do NO_3^- . Além de o mecanismo ser ativo, sabe-se que a entrada do íon NO_3^- dentro da célula é acompanhada por dois (ou mais) prótons (Fig. 4.3).

**FIGURA 4.2**

Inter-relação dos processos de assimilação e transporte de N na planta. Observe a transferência de aminoácidos do xilema para o floema e a conseqüente reciclagem de aminoácidos entre raiz e parte aérea.

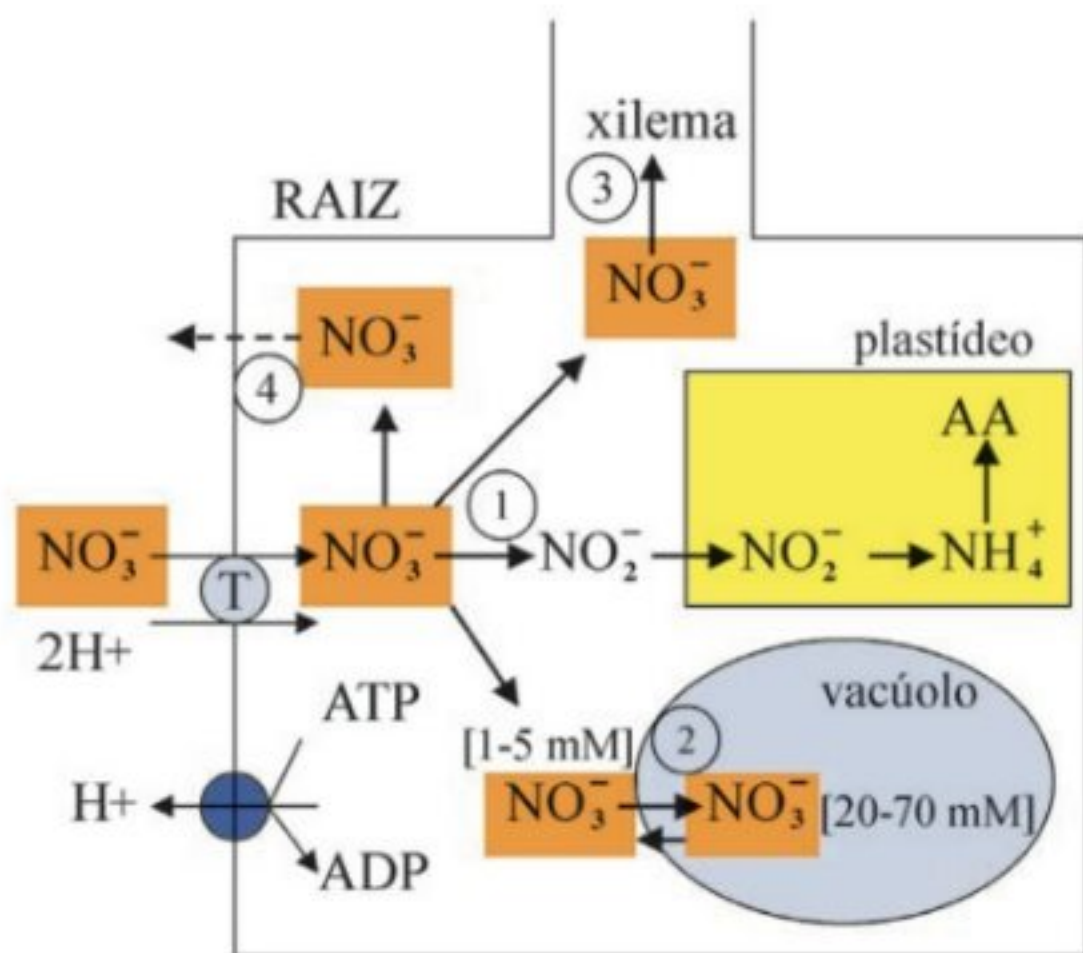


FIGURA 4.3

Destino do NO_3^- absorvido pela raiz.

1. Redução e subsequente assimilação
2. Transferência e armazenamento no vacúolo
3. Transporte via xilema
4. Efluxo

T = proteína transportadora de NO_3^-

O destino do NO_3^- , após sua absorção pela raiz, está esquematizado na Fig. 4.3.

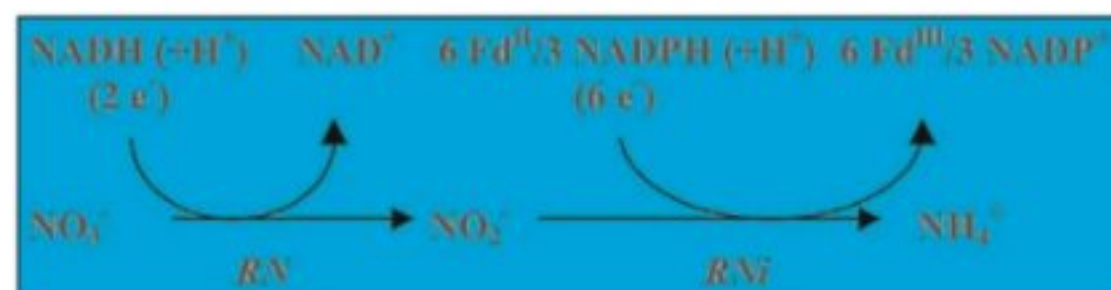
REDUÇÃO DO NO_3^-

Os principais locais na planta para a redução do NO_3^- são folhas e raízes. Todas as espécies já estudadas apresentam atividade da enzima *reductase do nitrato* (RN) nas folhas. Entretanto, a importância relativa da raiz e folha na assimilação do NO_3^- depende de dois fatores: a atividade da RN na raiz e a disponibilidade de NO_3^- no meio. Espécies com capacidade muito baixa em assimilar o NO_3^- nas raízes (por exemplo, espécies de *Gossypium*, *Xanthium* e *Cucumis*) enviam todo o íon absorvido (via xilema) para assimilação nas folhas. Espécies com alta capacidade em assimilar o NO_3^- nas raízes (por exemplo, *Lupinus* spp.) dificilmente têm essa capacidade superada pelo NO_3^- absorvido, e, conseqüentemente, a importância da folha é pequena. Porém, a maioria das espécies são intermediárias em termos de capacidade de assimilar o NO_3^- nas raízes. Nesses casos, a folha torna-se importante apenas quando o NO_3^- no meio estiver em concentração suficiente para superar a capacidade de redução da raiz. No entanto, há exceções a essa regra. Apesar de uma capacidade razoável para a assimilação do NO_3^- na raiz, algumas leguminosas transportam parte significativa do NO_3^- para a folha mesmo quando a capacidade da raiz não é superada.

A redução completa do NO_3^- até NH_4^+ requer oito elétrons:



Na célula, a redução ocorre em duas etapas, cada uma envolvendo doadores de elétrons específicos:



O primeiro passo é catalisado pela enzima redutase do nitrato (RN), localizada no citoplasma, enquanto a *reductase do nitrito* (RNi), localizada no cloroplasto (tecidos verdes) ou plastídeos (tecidos não-verdes), catalisa o segundo.

Na maioria das espécies estudadas, a enzima RN tem NADH como doador específico de elétrons. Entretanto, em algumas espécies a enzima utiliza tanto NADH como NADPH. Essa enzima biespecífica pode ocorrer isoladamente ou junto com a enzima monoespecífica. Em soja são conhecidas três isoformas, uma induzida pelo NO_3^- e específica para NADH e duas formas constitutivas, uma específica para NADH e outra biespecífica. A estrutura molecular da RN é bastante complexa, sendo a enzima constituída de duas subunidades idênticas de 110 a 115 kDa. Cada subunidade é composta de regiões distintas, envolvidas na transferência de elétrons do NADH até o NO_3^- (Fig. 4.4).

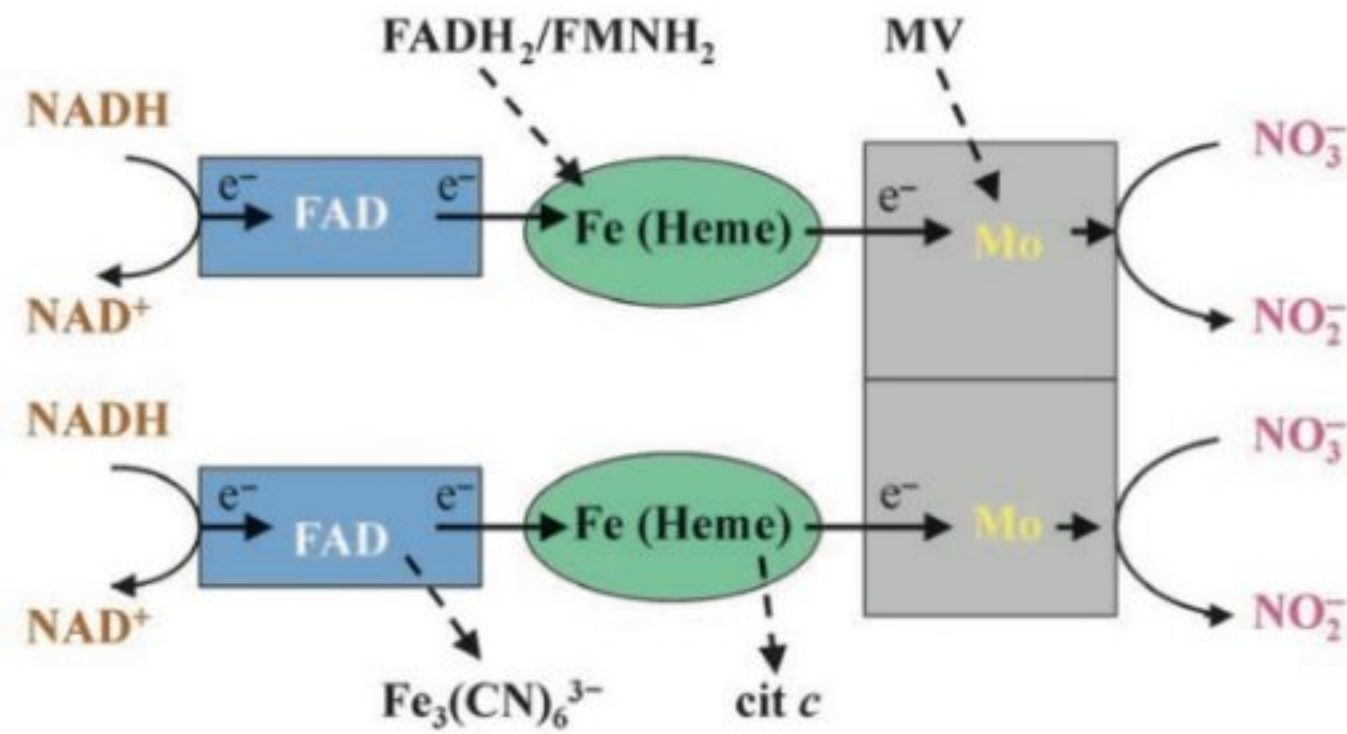
A presença de molibdênio na proteína como co-fator é interessante pelo fato de a RN ser uma das poucas proteínas conhecidas em plantas que contêm esse íon. Na deficiência de molibdênio, a atividade de RN fica bastante reduzida.

Além do NO_3^- , a RN pode transformar o clorato em cloreto, que é bastante tóxico para as plantas. Essa característica é explorada em herbicidas à base de clorato.

Regulação da enzima

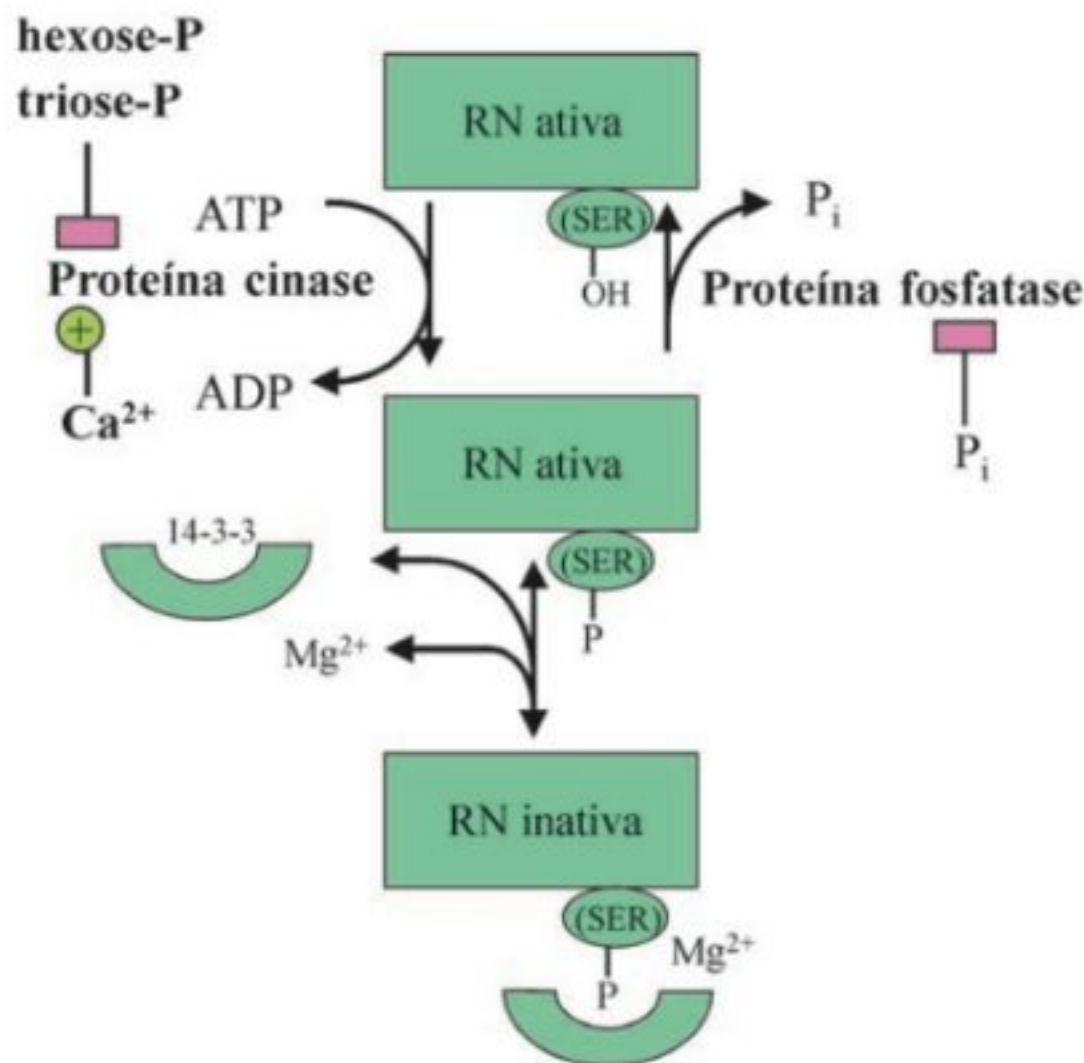
Em função da importância estratégica da RN no metabolismo de N em plantas (pois constitui a principal porta de entrada do N no metabolismo da planta), é natural que existam vários mecanismos de controle da sua atividade. Os dois principais pontos de regulação ocorrem ao nível da transcrição (indução) e da pós-tradução. A primeira é mais lenta (leva algumas horas) e é responsável por algumas das mudanças diárias de atividade, como, por exemplo, o aumento na atividade durante as primeiras horas de luz do dia, quando o fluxo transpiratório leva o NO_3^- até a folha, resultando na indução (síntese *de novo*) da enzima. O termo *indução* tem sido usado indiscriminadamente na literatura para qualquer aumento de atividade da enzima, mas nem sempre a *indução* da enzima foi comprovada através da demonstração da sua síntese *de novo* ou de um aumento do RNAm específico.

Outro importante mecanismo de controle ocorre a nível de pós-tradução. Esse processo de ativação/desativação é bem mais rápido (leva alguns minutos) e pode ser importante, por exemplo, para “desligar” a enzima quando a planta passa da luz para o escuro, pois, havendo falta de ferredoxina reduzida, evita-se o acúmulo de nitrito, que é tóxico às plantas.

**FIGURA 4.4**

Modelo esquematizado da enzima redutase do nitrato, mostrando as duas subunidades, cada uma composta de 3 entidades com co-fatores distintos: uma flavoproteína (FAD), um citocromo b_{557} (Heme) e um complexo proteína–molibdênio. O fluxo de elétrons de NADH até o NO_3^- via FAD, grupo heme e molibdênio representa a atividade fisiológica da enzima. Outras reações catalisadas, não-fisiológicas (pois *não* ocorrem na célula), envolvem apenas parte da molécula: passagem de elétrons de NADH até ferricianeto via FAD, e até citocromo c via FAD e grupo heme; passagem de elétrons de metil viologênio (MV – um doador de elétrons artificial) até o NO_3^- via molibdênio. Essas reações parciais são frequentemente usadas em pesquisas para determinar quais regiões da enzima são comprometidas na presença de inibidores da enzima.

O processo de ativação/desativação envolve a transformação da enzima de uma forma inativa para ativa (e *vice-versa*) por mecanismo de fosforilação e desfosforilação (Fig. 4.5):

**FIGURA 4.5**

Regulação pós-tradução da enzima redutase do nitrato. Proteína cinase: estimulada por Ca^{2+} ; inibida por açúcares fosforilados (obs.: teores aumentados pela luz via fotossíntese). Proteína fosfatase: inibida por fósforo inorgânico. A proteína 14-3-3 e Mg^{2+} ligam-se com a forma fosforilada da RN, resultando na inativação (obs.: ao contrário de outras enzimas que sofrem ativação e desativação pelo mecanismo de fosforilação/desfosforilação, as duas formas de RN, fosforilada e desfosforilada, são ativas). (Figura adaptada de Kaiser & Huber, *J Exp Bot*, 2001; 52:1981.)

A luz influi indiretamente na atividade da RN na folha, provocando mudanças numa série de íons e metabólitos envolvidos nesse mecanismo de regulação. Com a fotossíntese, ocorre aumento no teor de açúcares fosforilados (como triose-P) e queda em fósforo inorgânico (em função do aumento em ATP, por exemplo), proporcionando condições favoráveis para a ativação da RN (Fig. 4.5).

A luz também está envolvida na regulação da RN a nível de transcrição (via fitocromo). A oscilação diária de atividade entre os períodos de luz e escuro continua quando a planta é transferida para luz contínua, comprovando que a enzima obedece a um ritmo circadiano. Outros fatores que influem na síntese da enzima são o gás carbônico, sacarose e alguns metabólitos nitrogenados, estando o NO_3^- entre os mais importantes. O NO_3^- tem uma forte influência sobre todos os componentes da assimilação de NO_3^- . Além da própria RN, ele regula as proteínas de transporte (absorção de NO_3^- ; ver Fig. 4.3), e as enzimas RNi, GS e GOGAT (Fd) (ver adiante). No caso da folha, é importante frisar que não é o teor de NO_3^- aí presente que é importante na indução da enzima, mas a quantidade trazida pelo fluxo transpiratório.

A segunda enzima do processo de assimilação do NO_3^- , a redutase do nitrito (RNi), é localizada nos cloroplastos, nas folhas e em plastídeos, na raiz. A enzima do cloroplasto foi mais estudada e suas propriedades são mais conhecidas. Ela tem a ferredoxina como co-fator, e, portanto, os elétrons são fornecidos pelas reações fotoquímicas. Sua estrutura é constituída por um único polipeptídeo de 60–70 kDa, que contém um grupo siroheme (tetra-hidroporfirina contendo ferro) e um agrupamento 4Fe-4S no centro ativo, responsáveis pela transferência de seis elétrons da ferredoxina ao nitrito, até a sua redução em NH_4^+ . Nessa redução não há formação de intermediários livres. Apesar de localizada no cloroplasto, há evidências de que a codificação

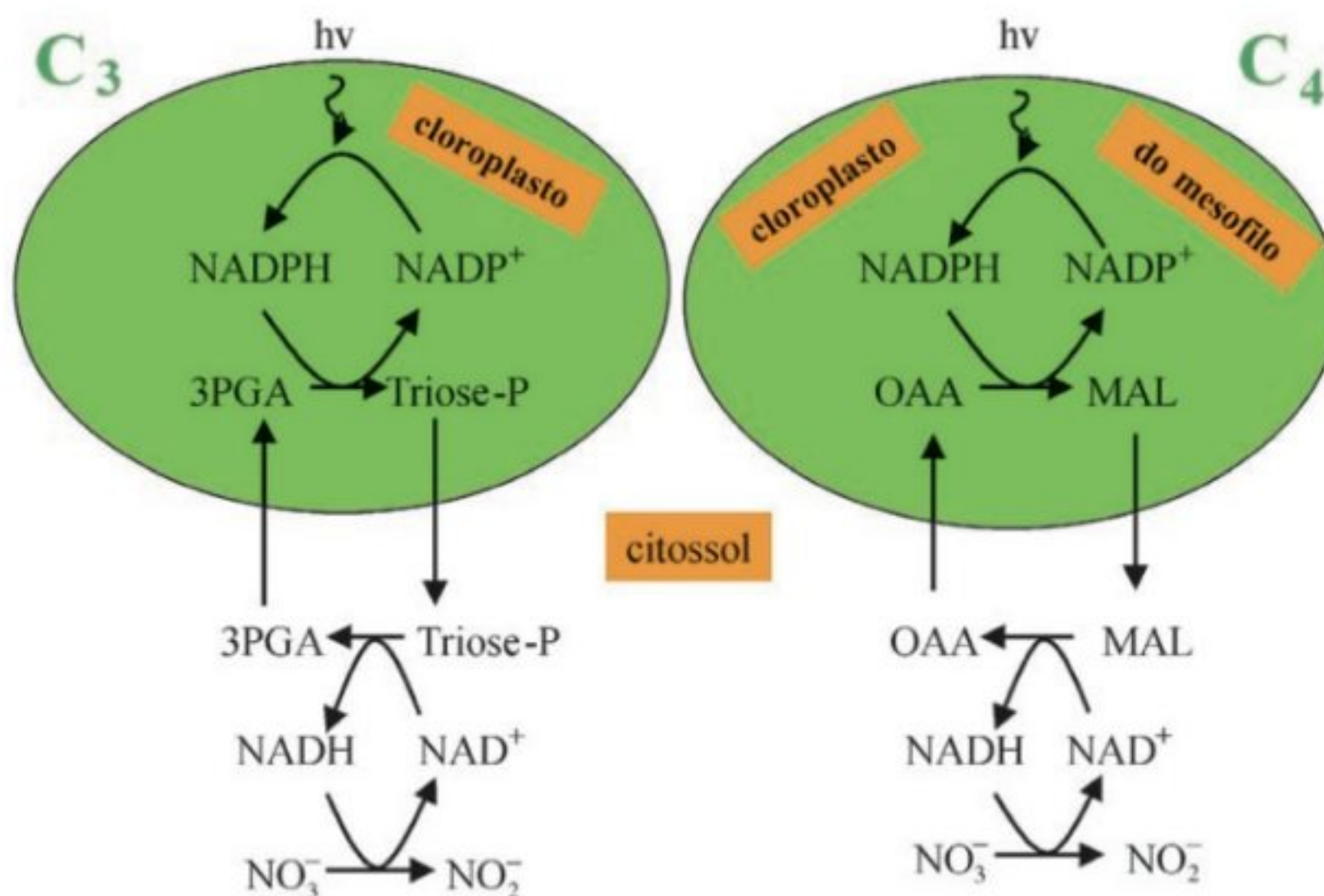


FIGURA 4.6

Fonte de poder redutor para a redutase do nitrato em folhas. Em plantas C₃, elétrons gerados nas reações fotoquímicas são transferidos do cloroplasto para o citossol, principalmente via 3-fosfoglicerato/triose-P. Em plantas C₄, onde a redução do nitrato é restrita às células do mesofilo, oxaloacetato/malato desempenha o mesmo papel, embora o sistema 3-fosfoglicerato/triose-P também possa funcionar em paralelo.

genética da RNi seja nuclear, e, portanto, a sua biossíntese ocorre no citoplasma. Um peptídeo em trânsito na região N-terminal da enzima determina o transporte para dentro do cloroplasto, onde é posteriormente removido. A enzima da raiz é menos conhecida. Aparentemente, recebe elétrons de uma proteína semelhante à ferredoxina, que, por sua vez, é reduzida por NADPH gerado na via das pentoses-fosfato.

Embora as vias de absorção, assimilação e transporte de N em plantas tenham sido elucidadas em estudos com plantas cultivadas, os poucos trabalhos realizados com espécies selvagens, naturais de ambientes diversos, sugerem a inexistência de grandes diferenças entre espécies. Variações podem ocorrer em função da disponibilidade de nutrientes, quando a importância relativa dos processos pode mudar bastante. Embora todas as espécies estudadas apresentem alguma capacidade de reduzir o NO₃⁻, muitas, talvez a maioria, vivem em ambientes onde a disponibilidade do NO₃⁻ é muito baixa. Essas podem fazer uso de fontes atmosféricas trazidas pelas chuvas (amônia, principalmente), ou mesmo do N da matéria orgânica em decomposição.

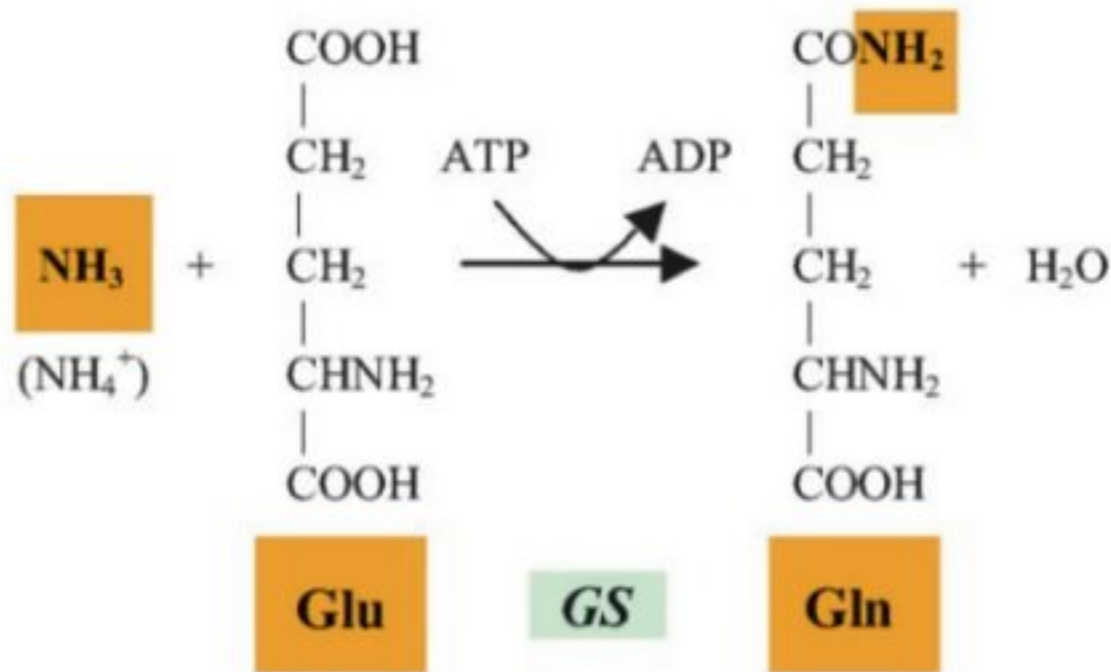
Fotossíntese e a assimilação de NO₃⁻

A eficiência do processo de assimilação do NO₃⁻ é maior na folha. Na raiz ou em outros tecidos não-verdes, a redução do NO₃⁻ e assimilação de NH₄⁺ dependem de energia química do metabolismo de fotoassimilados fornecidos pelas folhas. Dessa forma, consomem energia fotoquímica utilizada na fixação do gás carbônico. No cloroplasto, isso nem sempre acontece, pois os seis elétrons utilizados na redução do nitrito podem ser forne-

cidos diretamente pelas reações fotoquímicas, sem que haja competição com a fixação do gás carbônico. Pelo menos isso é possível sob alta intensidade luminosa, quando há excesso de energia fotoquímica e a assimilação do carbono satura facilmente. Em algumas plantas C₄, nas quais a saturação da fotossíntese pela luz é mais difícil, a competição entre a assimilação do NO₃⁻ e do gás carbônico pela energia fotoquímica é evitada de outra maneira. As enzimas da assimilação do NO₃⁻ estão localizadas nas células do mesofilo, principal local das reações fotoquímicas, enquanto o ciclo de Calvin está restrito às células da bainha vascular, onde a reduzida atividade do fotossistema II limita o fluxo de elétrons não-cíclico e, conseqüentemente, prejudica o fornecimento de ferredoxina reduzida. O mesmo argumento é válido para a redução do NO₃⁻ em nitrito, que utiliza NADH gerado pelo metabolismo respiratório. Na folha, os metabólitos envolvidos estão diretamente associados às reações fotoquímicas via um mecanismo de lançadeiras, que não dependem da assimilação do carbono e, portanto, não competem com ela (Fig. 4.6).

ASSIMILAÇÃO DE NH₄⁺ E O CICLO DA SINTASE DO GLUTAMATO

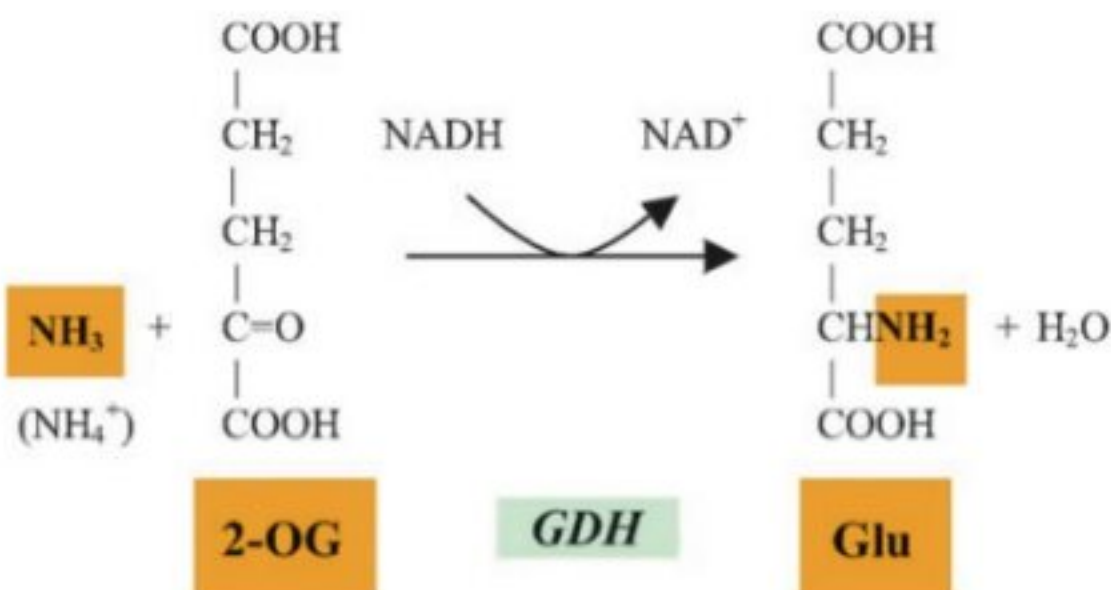
A natureza prejudicial do NH₄⁺ exige a sua rápida assimilação, evitando seu acúmulo nos tecidos. Para esse fim, os tecidos possuem um eficiente sistema de assimilação que funciona em baixas concentrações de NH₄⁺. A enzima responsável é a *sintetase da glutamina* (GS), que catalisa a união do NH₄⁺ com o ácido glutâmico para formar glutamina:



Reação catalisada pela enzima sintetase da glutamina (GS), encontrada na maioria dos tecidos das plantas, embora com grande variação de atividade. A nível subcelular, ocorre tanto no citossol como em plastídeos. É constituída de 8 subunidades e tem massa molecular de 300–370 kDa, dependendo da espécie. São encontradas duas isoformas: a GS₁, localizada no citossol e a forma predominante nas raízes, e GS₂, localizada no cloroplasto e a forma predominante nas folhas. As subunidades de GS₁ e GS₂ são sintetizadas a partir de genes distintos. Nas folhas, a GS₂ é a maior responsável pela assimilação de NH₄⁺, tanto proveniente da redução de NO₃⁻ como da fotorrespiração.

A eficiência desse processo é muito superior à taxa de produção de NH₄⁺ formada principalmente pela redução de NO₃⁻ e, nas folhas de plantas C3, pela fotorrespiração, cuja taxa de produção pode superar a redução do NO₃⁻ em 10 vezes. Dessa forma, em condições normais, o NH₄⁺ é mantido em concentrações baixas nos tecidos vegetais.

Embora o papel de assimilar NH₄⁺ tenha sido atribuído à GS, ela não é a única enzima capaz de catalisar a incorporação de NH₄⁺ em forma orgânica. A desidrogenase do glutamato (GDH) catalisa uma reação (reversível) entre 2-oxoglutarato, NH₄⁺ e NADH, formando assim o aminoácido ácido glutâmico:

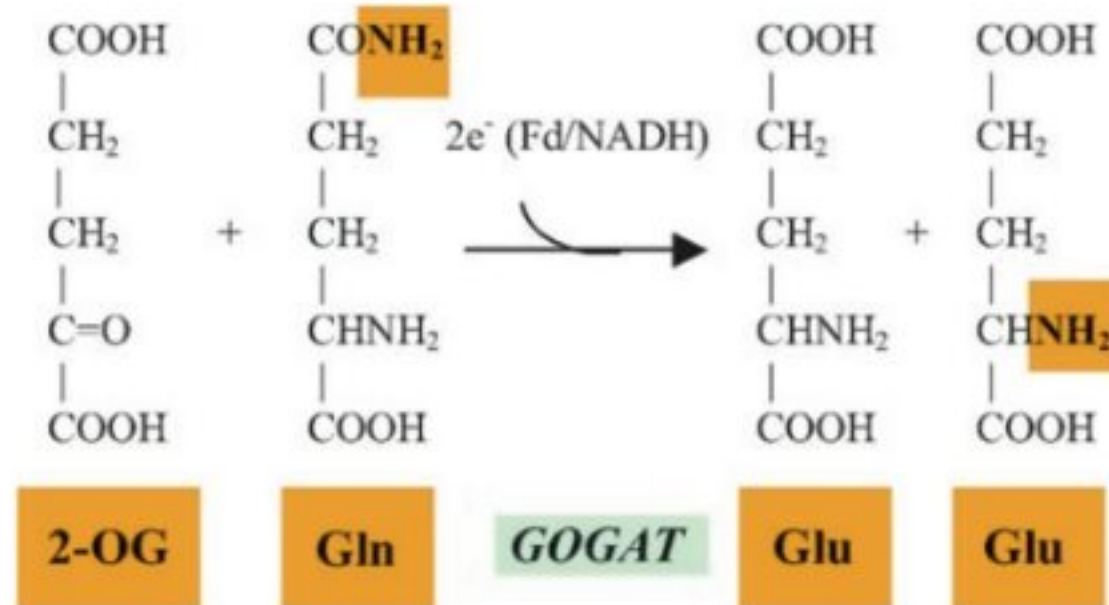


Reação catalisada pela enzima desidrogenase do glutamato (GDH). A enzima é encontrada em diversos tecidos das plantas, mas principalmente em mitocôndrias de folhas, sugerindo que possa ter algum papel na assimilação do NH₄⁺ produzido na fotorrespiração. O assunto é, porém, bastante controverso. GDH é ativada por Ca²⁺ e induzida por NH₄⁺. A estrutura molecular da enzima é constituída de 6 subunidades com M_r de 42,5 kDa e 43 kDa.

Entretanto, a GDH não é muito eficiente na direção de assimilação, pois o Km para NH₄⁺ é alto, o que significa que a reação

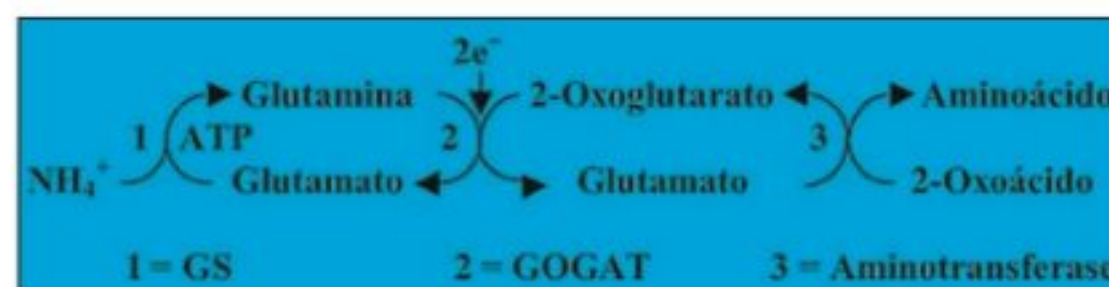
nessa direção só é eficiente na presença de concentrações elevadas desse íon. Apesar disso, durante muito tempo pensou-se que a GDH, e não a GS, desempenhava a função de assimilar NH₄⁺ nas plantas, simplesmente porque não era conhecida nenhuma reação que pudesse dar prosseguimento à assimilação do N via glutamina. O ácido glutâmico produzido na reação é, por outro lado, prontamente utilizado na formação de todos os outros aminoácidos (ver adiante).

O dogma mudou quando dois pesquisadores britânicos, Peter Lea e Benjamin Mifflin, descobriram, em plantas, uma enzima capaz de transferir o N de glutamina para 2-oxoglutarato, formando o ácido glutâmico. Essa nova enzima foi denominada amidatransferase de glutamina:2-oxoglutarato ou GOGAT (conhecida também como sintase do glutamato). A reação catalisada por essa enzima necessita de dois elétrons, fornecidos pela ferredoxina (isoforma localizada no cloroplasto) ou NADH (isoforma de tecidos não-verdes):



Reação catalisada pela enzima amidatransferase de glutamina: 2-oxoglutarato (GOGAT). São conhecidas duas isoenzimas de GOGAT com diferentes especificidades pelo doador de elétrons: a enzima do cloroplasto utiliza a ferredoxina (Fd), enquanto a enzima encontrada em tecidos não-verdes é específica para NADH. As duas são flavoproteínas com um centro Fe-S; a dependente de NADH é composta de 1 subunidade em torno de 230 kDa.

É importante observar que há formação de duas moléculas de ácido glutâmico. Uma das moléculas de ácido glutâmico pode ser consumida na formação de outros aminoácidos, via transaminação, e a outra retornar para assegurar a continuação da atividade da GS. Essa inter-relação entre a GS, GOGAT e aminotransferase (conhecido como o ciclo da sintase do glutamato) está representada no esquema a seguir e mostra o fluxo de N a partir do NH₄⁺ até a formação de aminoácidos:

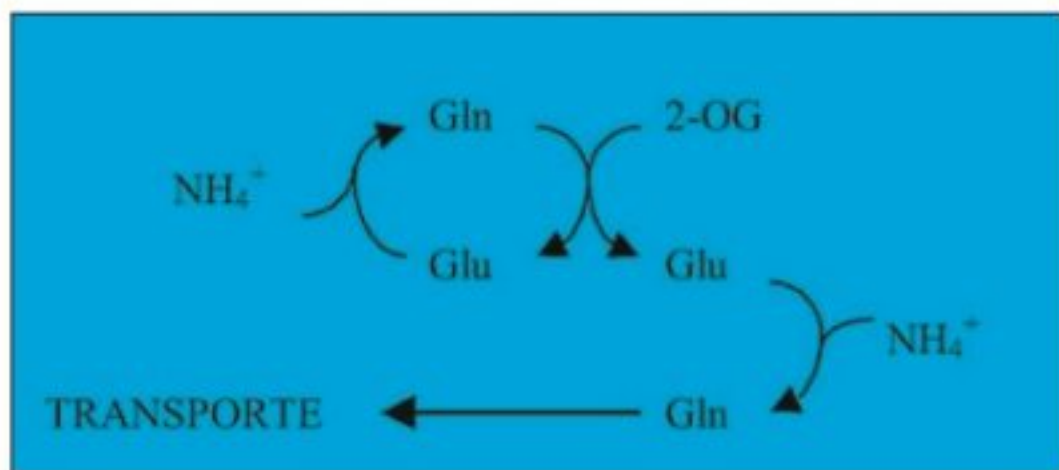


Nas folhas, esse processo ocorre dentro do cloroplasto, onde a enzima GOGAT é específica para ferredoxina como doador de elétrons. Embora atividade de GS seja também encontrada

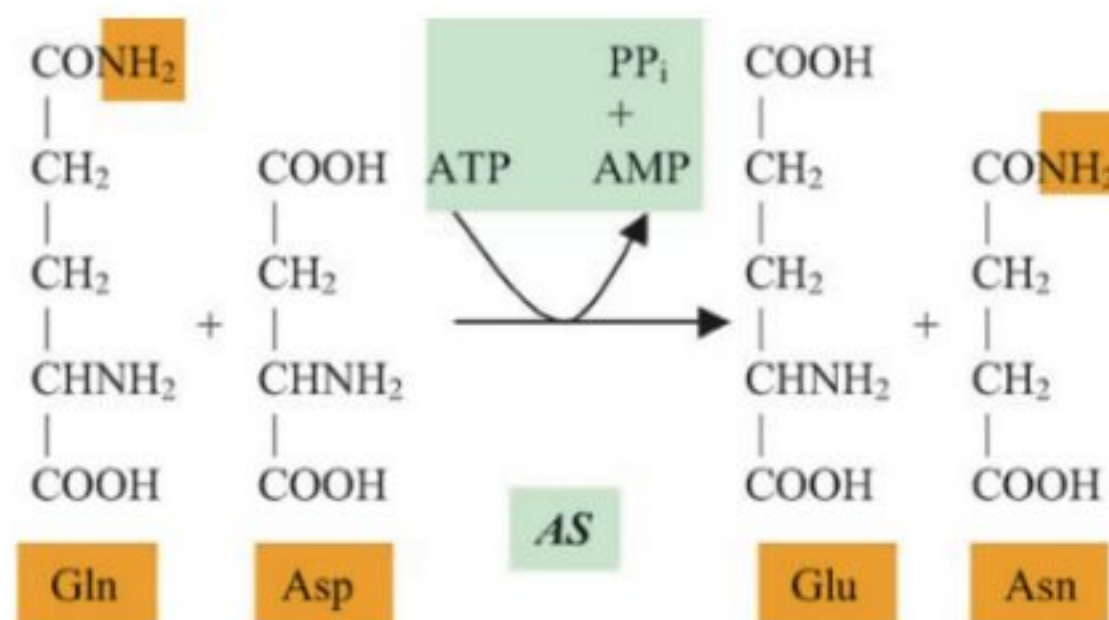
fora do cloroplasto (GS_1), ela é relativamente muito baixa comparativamente à enzima do cloroplasto (GS_2). A síntese de muitos aminoácidos se completa no cloroplasto, embora a interconversão e síntese de aminoácidos também ocorra fora dessa organela.

Estabelecida a importância do sistema GS/GOGAT na assimilação do NH_4^+ , fica a pergunta: qual, então, a função de GDH? Embora não descartada a possibilidade de uma função assimilatória em condições muito especiais, onde a sua baixa afinidade pelo NH_4^+ possa ser superada, a GDH certamente desempenha uma função na degradação de aminoácidos. Dois motivos apontam para isso: em primeiro lugar, a reação catalisada por essa enzima é plenamente reversível; em segundo, a sua atividade costuma ser mais alta em tecidos senescentes, em que a mobilização de proteínas ocorre através da degradação de aminoácidos. Dessa forma, o N dos aminoácidos liberados das proteínas atacadas por enzimas proteolíticas e, depois, transferido para o glutamato, via aminotransferases, é finalmente liberado como NH_4^+ pela GDH. Esse NH_4^+ fica disponível para transformação em compostos de transporte de N, como glutamina e asparagina, que completam o processo de mobilização de N de tecidos senescentes para tecidos em desenvolvimento.

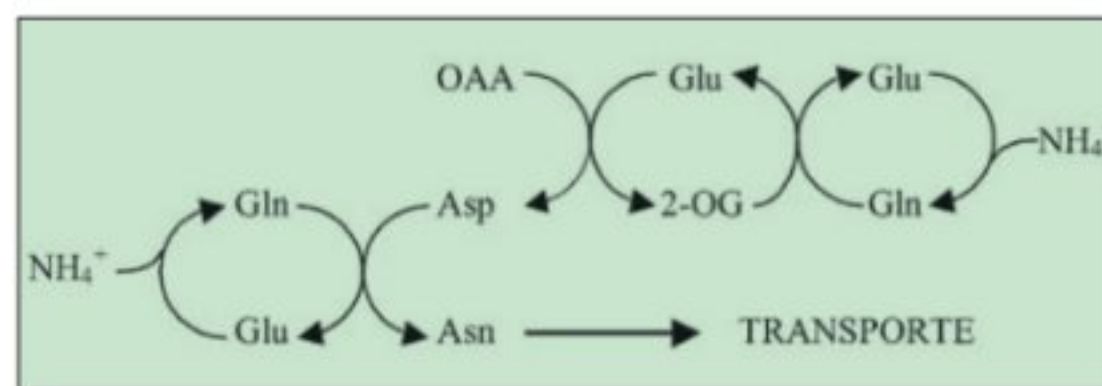
Entretanto, não são apenas os tecidos senescentes que exportam o N para outras partes da planta na forma de glutamina e asparagina. Os principais locais de redução e assimilação de NO_3^- , as raízes e as folhas, também o fazem e em grande quantidade. Nessa situação, nem toda a glutamina formada via GS segue pela GOGAT, podendo ser exportada como composto de transporte ou ser primeiro transformada em asparagina para depois ser transportada nessa forma. Essa assimilação de N direcionada ao transporte funciona paralelamente ao sistema GS/GOGAT já descrito. É evidente que a simples assimilação do NH_4^+ em glutamina para fins de transporte acabaria em pouco tempo com o ácido glutâmico endógeno. Entretanto, para cada NH_4^+ assimilado para transporte na forma de glutamina, há outro assimilado pelo sistema GS/GOGAT para repor o ácido glutâmico usado na geração de glutamina para transporte:



Nessa situação, os dois sistemas devem funcionar simultaneamente. Quando há formação de asparagina, a reação envolve a glutamina e o ácido aspártico, catalisada pela *asparaginase* (AS):



Nesse caso, mais uma vez o funcionamento em paralelo do sistema GS/GOGAT assegura a produção de ácido aspártico consumido nessa reação:



Portanto, o sistema GS/GOGAT tem duas finalidades principais nos tecidos de assimilação primária: fornecer o N para a formação de todos os aminoácidos necessários para a síntese de proteína no próprio tecido, suprimindo assim a demanda local, e a produção de glutamato e aspartato para a formação das amidas necessárias para o transporte de N até outros tecidos (drenos).

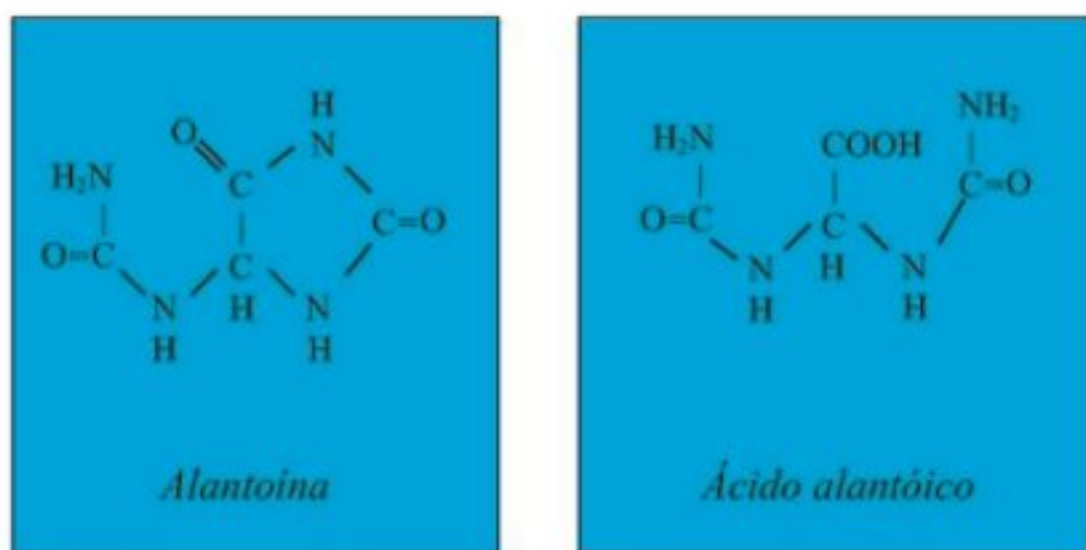
TRANSPORTE DO N

O transporte do N pela planta é um importante elo entre os sítios de assimilação e os drenos. Esse transporte a longa distância envolve tanto o xilema como o floema. O transporte pelo xilema basicamente faz a ligação entre a raiz e a folha, pois depende da transpiração, sendo assim responsável pelo escoamento dos produtos da assimilação na raiz (incluindo os nódulos, no caso de leguminosas noduladas), bem como o transporte do excesso de NO_3^- absorvido pelas raízes até as folhas, outro sítio importante de assimilação do NO_3^- .

O transporte de N na planta envolve compostos específicos e característicos da espécie. No geral, predominam os principais produtos da assimilação do N, como glutamina e asparagina. É característica das leguminosas a predominância de asparagina, com a glutamina freqüentemente em segundo lugar. Ambos são produtos primários dos processos de assimilação, tanto do NO_3^- como da fixação simbiótica do N. Nas gramíneas, predomina a glutamina, enquanto a asparagina está presente em quantidades mínimas. No entanto, o número de espécies estudadas é relativamente pequeno para generalizar e esse quadro pode mudar no futuro.

São conhecidos alguns casos especiais, ou seja, espécies que fogem a essa regra. O mais bem documentado é o caso das legu-

minosas da tribo Phaseoleae (por exemplo, soja, feijão, feijão-de-corda), nas quais predominam os ureídeos, sendo responsáveis por 60 a 90% do N transportado no xilema. Os ureídeos alantóina e ácido alantóico são produtos quase específicos da fixação simbiótica de N nessas espécies, de forma que a sua presença é mínima no sistema de transporte de plantas não-noduladas, cultivadas com NO_3^- . Em função dessa especificidade, o transporte de ureídeos no xilema pode ser usado como indicador do grau de fixação do N nessas espécies.



Os ureídeos alantóina e ácido alantóico são formados no nódulo via catabolismo de purinas. O teor de N (4N:4C) na molécula é mais alto que em outros compostos de transporte, como a asparagina (2N:4C) e glutamina (2N:5C).

Mesmo nas leguminosas que apresentam o metabolismo de N baseado em ureídeos, o aminoácido asparagina geralmente aparece em segundo lugar e predomina no xilema nas plantas não-noduladas.

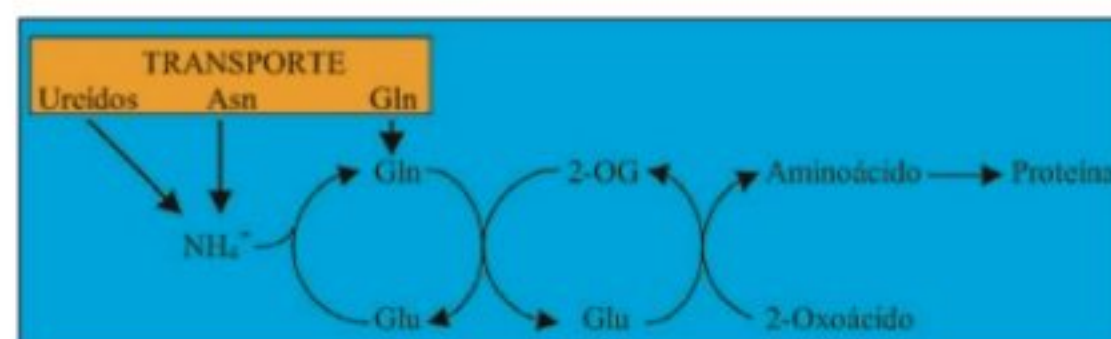
São conhecidas outras formas características de transporte de N na planta. Por exemplo, a citrulina (inclusive produto da fixação de N_2) em *Alnus* e *Casuarina* e a arginina em muitas árvores. Esses dois aminoácidos são caracterizados pela alta relação N:C (citrulina, 3:6, e arginina, 4:6).

Uma parte bastante significativa do N transportado via xilema não alcança a folha, uma vez que, durante o percurso, é constante a transferência de aminoácidos para o floema. Ocorre um processo seletivo nessa transferência, pois os aminoácidos básicos (arginina, lisina etc.) são transferidos com maior facilidade, os neutros (asparagina, glutamina etc.) com facilidade menor, enquanto os aminoácidos ácidos são mais difíceis de serem transferidos. O NO_3^- , aniônico como os aminoácidos ácidos, é totalmente excluído da transferência e, por essa razão, serve para diferenciar a seiva do xilema da seiva do floema.

Apesar da seletividade na transferência de aminoácidos do xilema para o floema, o conteúdo do floema não apresenta uma abundância de aminoácidos básicos. Pelo contrário, os mesmos aminoácidos abundantes no xilema (geralmente asparagina e/ou glutamina) são os principais aminoácidos encontrados no floema. A explicação está na maior concentração no xilema, que compensa as restrições de transferência. Por outro lado, os aminoácidos básicos normalmente estão em baixíssima concentração no xilema (exceto arginina em algumas árvores).

Como o transporte no floema corre nos dois sentidos, parte do N transferido é devolvida para a raiz, onde pode ser metabolizada ou retornada para o xilema. Essa reciclagem de N pode ter um importante papel regulatório nos processos de assimilação, servindo como

indicador do estado nutricional da planta em termos de N. Além da transferência de N do xilema para o floema, aminoácidos produzidos na assimilação do NO_3^- nas folhas são carregados no floema para transporte. No final do ciclo da planta, na fase reprodutiva, há mobilização de grande quantidade de N, na forma de aminoácidos, das folhas e do caule para os frutos em desenvolvimento, que representam os drenos mais fortes nessa fase. O transporte de N para os frutos envolve principalmente o floema, pois os frutos e, em particular, as sementes têm poucas ligações com o xilema ou nenhuma. Por outro lado, pelo menos em algumas espécies, existe uma concentração de tecidos especializados na transferência do N do xilema para o floema na região do pedúnculo. No fruto de uma leguminosa, as ramificações do floema permeiam os tegumentos (casca da semente). É nesse ponto que as substâncias transportadas pelo floema, compostos nitrogenados inclusive, são descarregadas do floema por mecanismo ativo (dependente do ATP), entrando nos tecidos do tegumento e atravessando-os, inicialmente por via simplástica e, depois, pelo apoplasto. Finalmente, acabam sendo secretadas entre o tegumento e os cotilédones, quando são absorvidos por esses tecidos, provavelmente através de mecanismo ativo. Durante todo esse percurso entre o floema e os cotilédones, as substâncias de transporte estão sujeitas a serem metabolizadas, dependendo do complemento de enzimas presentes nos respectivos tecidos. Por exemplo, no fruto da soja os ureídeos são totalmente metabolizados após descarregamento do floema no tegumento, sendo a glutamina o principal produto desse metabolismo e, portanto, responsável por transportar o N até o cotilédone. Compatível com esse processo, um cotilédone isolado e colocado em meio de cultura tendo glutamina como única fonte de N, cresce e produz todos os aminoácidos necessários para a síntese de proteínas de reserva. Por outro lado, o cotilédone possui baixa capacidade para metabolizar os ureídeos. Outros compostos de transporte, como a asparagina, podem ser parcialmente metabolizados durante esse percurso pelo tegumento. O caminho metabólico dos compostos de transporte, usando como exemplo a soja, segue essencialmente a via GS/GOGAT, embora partes desse conjunto de reações possam estar separadas entre o tegumento e o cotilédone, conforme as atividades enzimáticas dos tecidos:



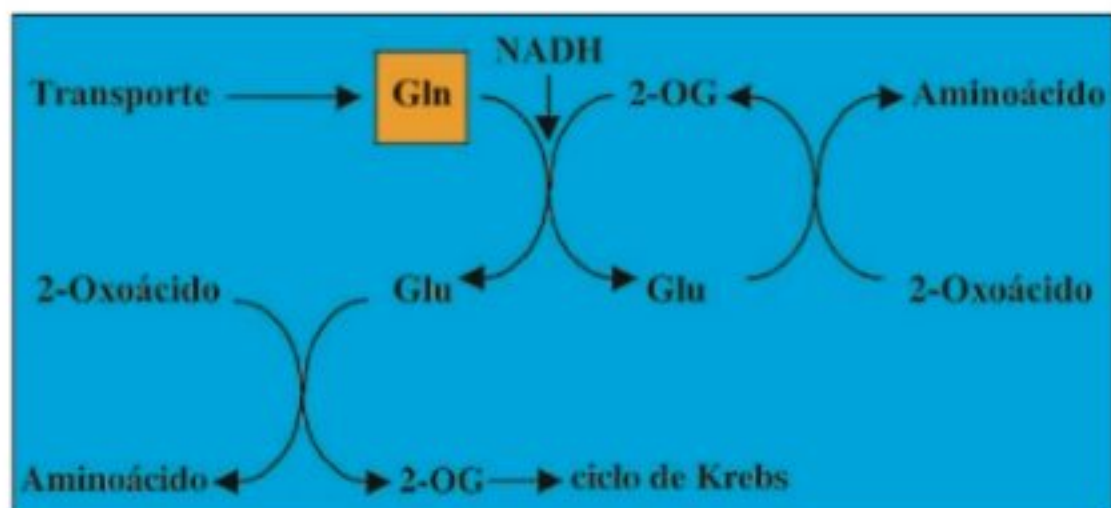
O transporte de N para os frutos é importante para fornecer os aminoácidos necessários para a síntese de proteínas de reserva armazenadas na semente, para uso como fonte de N durante a germinação. Muitas espécies cultivadas para a produção de grãos contêm quantidades elevadas de proteínas na semente, podendo-se destacar a soja, cujo teor de proteína no grão pode atingir cerca de 50% do peso. O transporte de N evidentemente é intenso para o fruto, mas não é fornecida uma mistura de aminoácidos na proporção certa para a síntese das proteínas e, sim, algumas subs-

tâncias específicas. Conseqüentemente, ocorre intenso metabolismo dessas substâncias nos frutos, para assegurar a síntese de todos os aminoácidos necessários para a formação das proteínas.

UTILIZAÇÃO DO N TRANSPORTADO NOS SÍTIOS DE CONSUMO

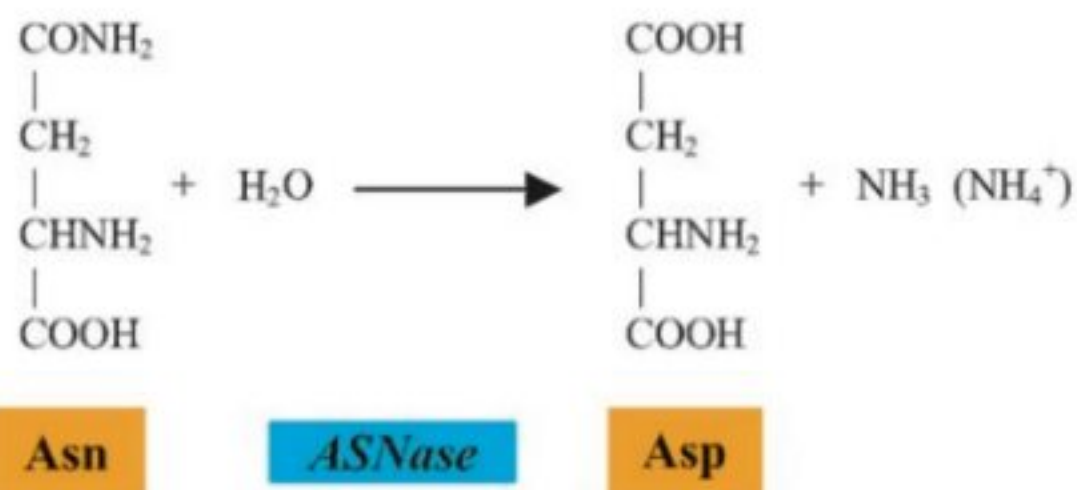
A distribuição das substâncias do transporte do N via floema e xilema para os sítios de consumo (drenos) implica o seu pronto metabolismo. O metabolismo de N nos sítios de consumo envolve, principalmente, a transformação do N descarregado das vias de transporte em outros aminoácidos e a sua incorporação em proteínas. São abordadas aqui as três formas do transporte de N orgânico destacadas neste capítulo (glutamina, asparagina e ureídeos).

O metabolismo da glutamina nos sítios de consumo segue um caminho muito próximo àquele encontrado nos sítios de assimilação. A glutamina é primeiro metabolizada via GOGAT, com a formação de duas moléculas de glutamato. Ao contrário do processo de assimilação, ambas as moléculas de glutamato participam na transaminação, na qual o N é usado na formação de outros aminoácidos.

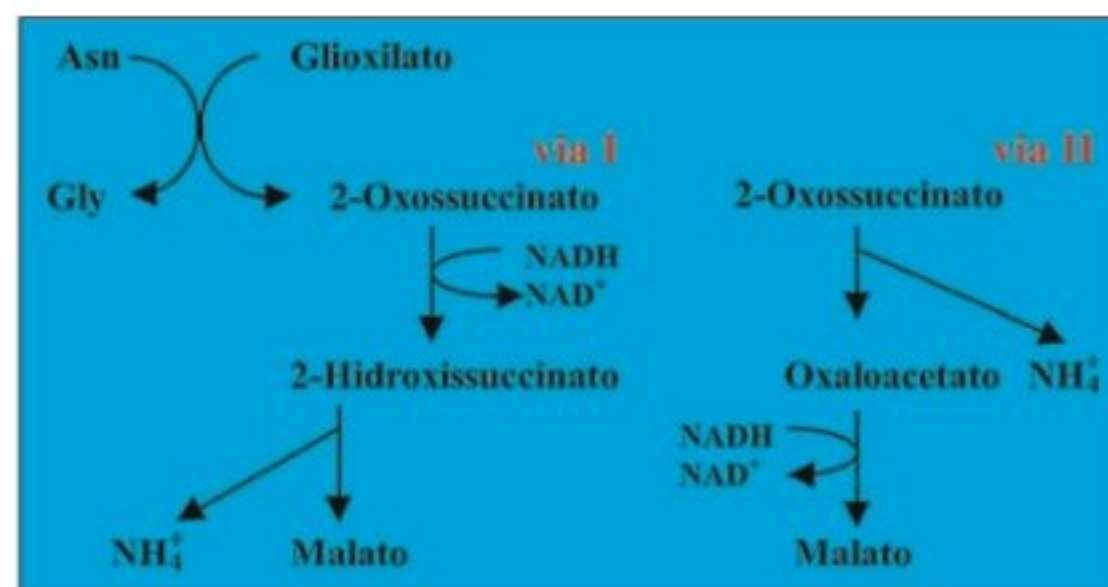


Dessa forma, 1 molécula de glutamina assegura a reciclagem de 1 molécula de oxoglutarato necessário para a reação da GOGAT, e o outro oxoglutarato, produto da transaminação do segundo glutamato, sobra para contribuir com o metabolismo de carbono. Nesse caso, a enzima GOGAT envolvida é a forma dependente de NADH como doador de elétrons, tendo em vista a sua distribuição em tecidos não-verdes.

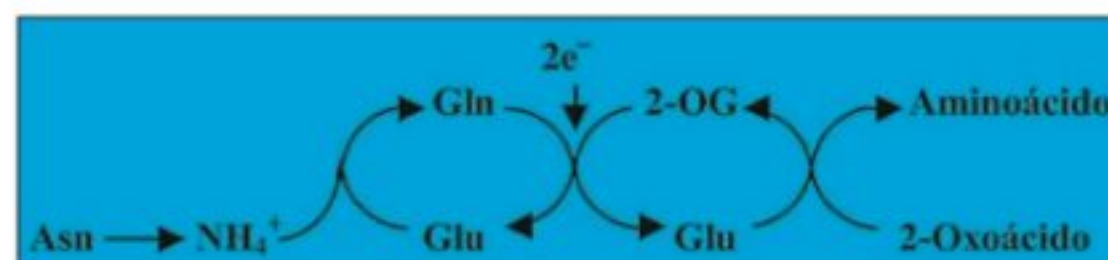
No caso de asparagina, a forma inicial do seu metabolismo varia de acordo com o tecido. Duas vias são conhecidas, uma envolvendo a enzima *asparaginase* e outra a enzima *aminotransferase da asparagina*. A primeira é encontrada em sementes imaturas e folhas na fase inicial de expansão. A reação catalisada leva à hidrólise do grupo amida, liberando NH_4^+ :



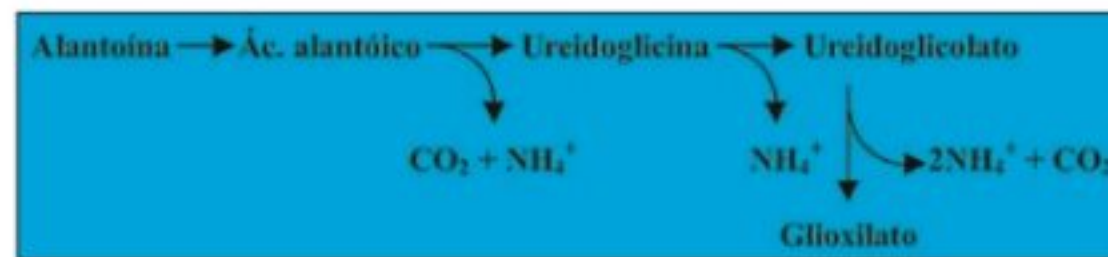
A segunda via, envolvendo a aminotransferase da asparagina, é encontrada principalmente em folhas e tecidos verdes. Essa enzima é também conhecida como aminotransferase de serina: glioxilato, que está envolvida na formação de glicina durante o processo de fotorrespiração. Essa confusão na nomenclatura decorre do fato de que a enzima tem baixa especificidade pelo substrato, utilizando tanto serina como alanina ou asparagina como doadores do grupo amino. Com a asparagina como substrato, o produto é o ácido 2-oxossuccinâmico, o qual sofre, em seguida, a desaminação e a redução, não necessariamente nessa ordem (vias I e II):



Qualquer que seja a forma inicial do metabolismo de asparagina, o N do grupo amida acaba sendo liberado na forma de NH_4^+ . A partir desse ponto, o metabolismo segue a via GS/GOGAT:



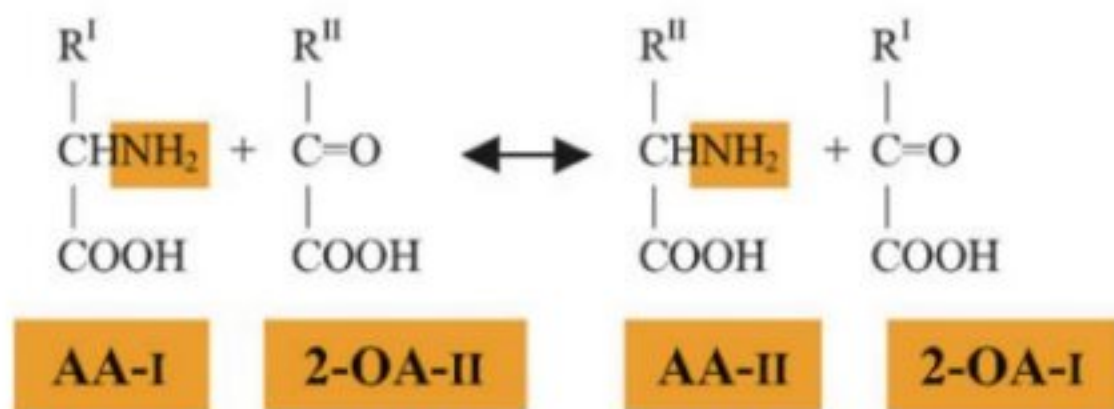
No caso dos ureídeos, os quatro átomos de N contidos na molécula são liberados um por um na forma de NH_4^+ :



O destino metabólico do NH_4^+ assim formado segue o mesmo caminho da assimilação de NH_4^+ descrito para o metabolismo de asparagina.

AMINOTRANSFERASES

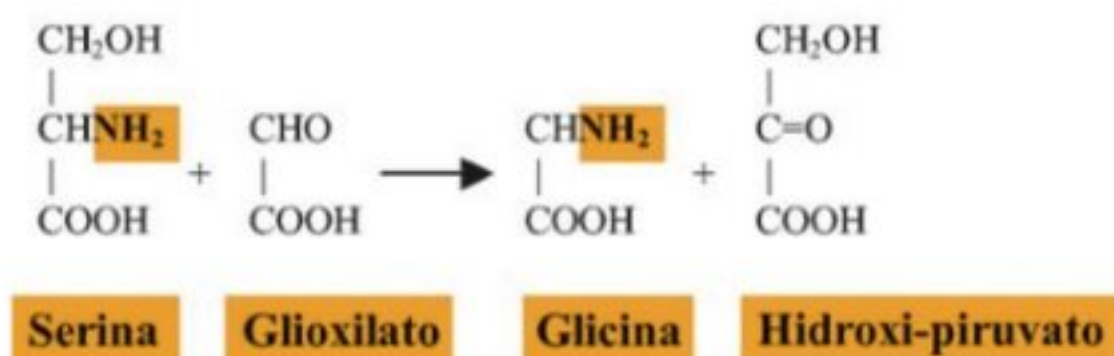
Após passar pelo sistema GS/GOGAT, o N segue o seu caminho na formação de outros aminoácidos, via reações de transaminação. As enzimas envolvidas, as aminotransferases (ou transaminases), catalisam a reação geral entre um aminoácido e um 2-oxo ácido, sendo normalmente reversível:



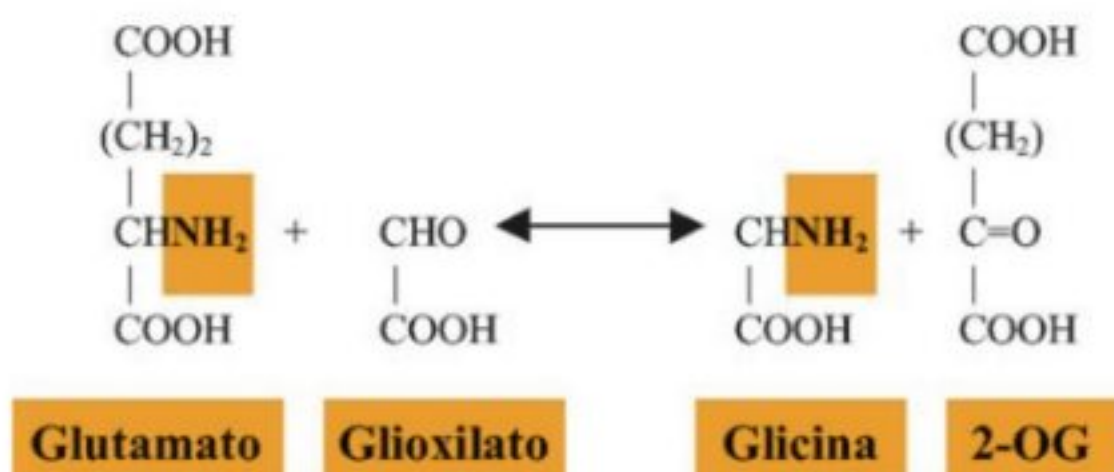
As duas aminotransferases mais bem estudadas em plantas são a *aminotransferase do aspartato* (AspAT) e a *aminotransferase da alanina* (AlaAT). Justamente em função da reversibilidade dessas reações, as duas enzimas também são conhecidas como, respectivamente, transaminase de glutamato:oxaloacetato (GOT) e transaminase de glutamato:piruvato (GPT). A maioria dos tecidos vegetais apresentam alta atividade dessas enzimas. As aminotransferases teriam o papel de dar seqüência ao sistema GS/GOGAT, tendo em vista que o glutamato é substrato de AspAT e AlaAT. Também desempenham um papel importante nas folhas de plantas com alguns dos tipos de mecanismo C_4 .

Apesar de essas duas aminotransferases apresentarem baixa especificidade pelo substrato, elas são enzimas distintas. Não é conhecida nenhuma aminotransferase para a interconversão direta de aspartato e alanina, apenas aspartato e glutamato ou alanina e glutamato. Dessa forma, para o N de aspartato ser transferido para alanina (ou *vice-versa*), é necessário passar por glutamato. Na maioria dos casos, os demais aminoácidos recebem seu N via transaminação ou diretamente do glutamato ou de alanina e aspartato.

Outras aminotransferases caracterizadas são as duas envolvidas no processo de fotorrespiração (folhas de plantas C_3). Uma delas, a aminotransferase de serina:glioxilato, catalisa reação irreversível:



e a outra, a aminotransferase de glutamato:glioxilato, reação reversível:



A aminotransferase de serina:glioxilato é a mesma enzima que catalisa a transaminação entre asparagina e glioxilato, já mencionado. Assim como AspAT e AlaAT, essas outras aminotransferases não apresentam alta especificidade pelos substratos, parecendo ser essa uma característica desse tipo de enzima. Por exemplo, a aminotransferase da serina:glioxilato pode usar ainda serina e piruvato como substratos.

BIOSSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS

Direta ou indiretamente, a transaminação é responsável pela formação do grupo 2-amino de todos os aminoácidos. O esqueleto de carbono é formado a partir de precursores encontrados na glicólise, via das pentoses-fosfato e ciclo de Krebs. Uma visão global da origem do esqueleto de carbono dos 20 aminoácidos protéicos é dada no esquema da Fig. 4.7.

É conveniente dividir a biossíntese dos 20 aminoácidos protéicos em grupos ou “famílias” de acordo com os caminhos metabólicos que se iniciam com determinados precursores comuns. Essa associação pode ser facilmente verificada na Fig. 4.7. Os precursores em comum são o aspartato, piruvato, eritrose-4-fosfato, glutamato e fosfoglicerato. A regulação dessas vias envolve mecanismos de retroinibição de enzimas alostéricas em pontos-chave da via biossintética, geralmente no primeiro passo e nos pontos de bifurcação.

Família do aspartato: treonina, lisina, metionina, isoleucina e asparagina

A formação de asparagina bem como do aspartato é intimamente relacionada com o metabolismo de carbono, detalhado na Fig. 4.7. O caminho biossintético dos demais aminoácidos dessa família, treonina, lisina, metionina e isoleucina, está representado na Fig. 4.8. Detalhes dos passos entre treonina e isoleucina são apresentados adiante, junto com a família do piruvato.

Em folhas, essa via biossintética está localizada no cloroplasto, e a localização subcelular em outros tecidos é desconhecida. A regulação dessa via é complexa em função do número de aminoácidos produzidos; cada aminoácido regula a sua própria biossíntese por retroinibição, e o primeiro passo catalisado pela *cinase do aspartato* é também um ponto de controle (Fig. 4.9).

Dessa forma, cada aminoácido inibe a primeira enzima da ramificação específica da sua produção. A isoleucina inibe a *desidratase da treonina*, a metionina (ou seu derivado imediato, a S-adenosil-metionina) age como repressor da *cistationina- γ -sintase* e a treonina inibe uma das duas isoenzimas da *desidrogenase da homosserina*. A outra isoenzima da desidrogenase da homosserina (insensível à treonina) assegura que a treonina não prejudique a síntese de metionina. A lisina inibe a *sintase do diidropicolinato*, a primeira enzima da ramificação que leva à sua síntese. O primeiro passo comum para todos esses aminoácidos, mediado pela cinase do aspartato, é regulado pela lisina e treonina. São conhecidas três isoenzimas, duas inibidas pela lisina e a outra pela treonina. Embora esse mecanismo de controle pela aspartato cinase evite

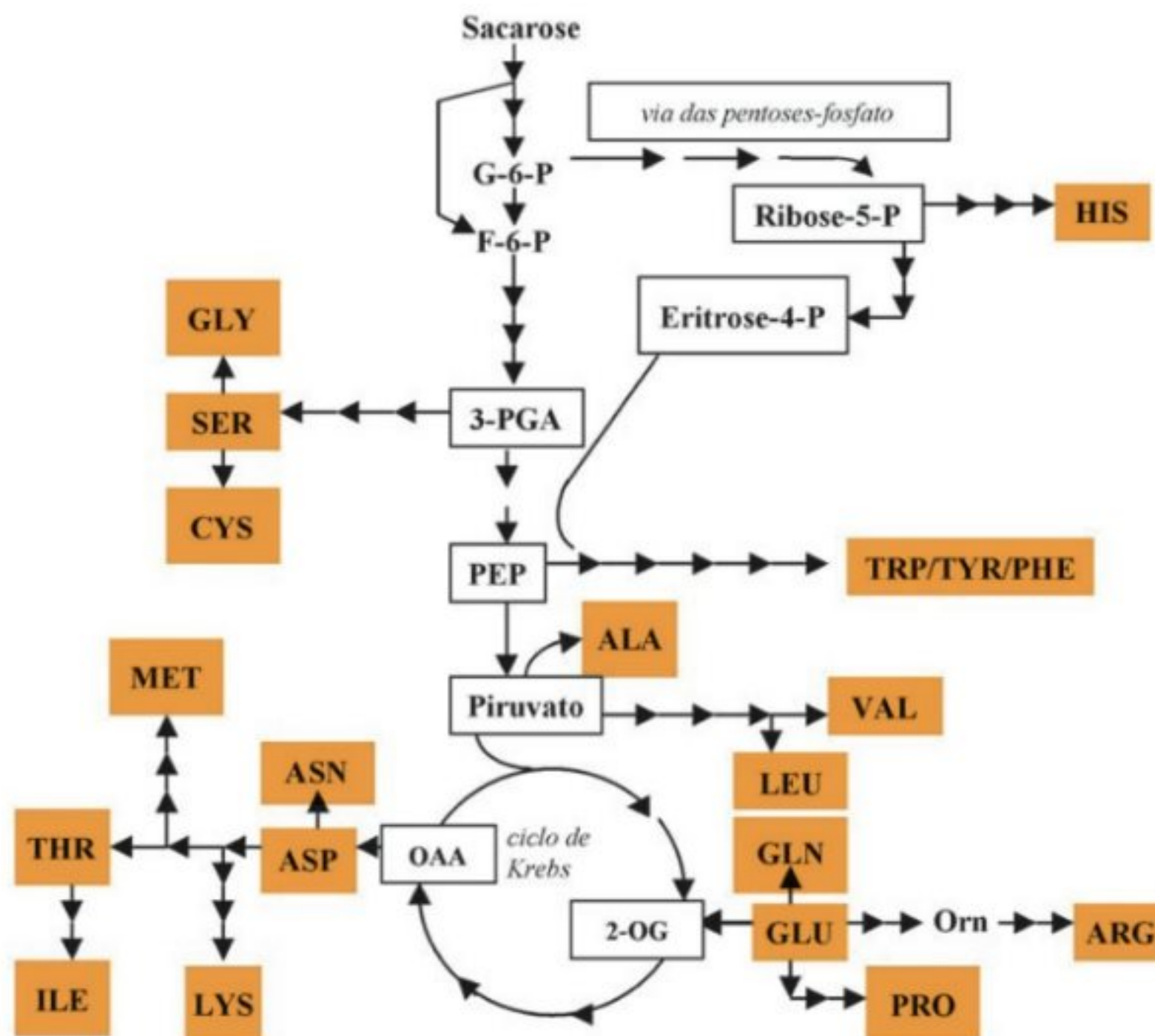


FIGURA 4.7

Inter-relação entre as vias de biossíntese dos 20 aminoácidos protéicos e o metabolismo do carbono. Alanina (Ala); arginina (Arg); aspartato (Asp); asparagina (Asn); cisteína (Cys); fenilalanina (Phe); glutamato (Glu); glutamina (Gln); glicina (Gly); histidina (His); isoleucina (Ile); leucina (Leu); lisina (Lys); metionina (Met); prolina (Pro); serina (Ser); treonina (Thr); tirosina (Tyr); triptofano (Trp); valina (Val). orn = ornitina (aminoácido não-protéico).

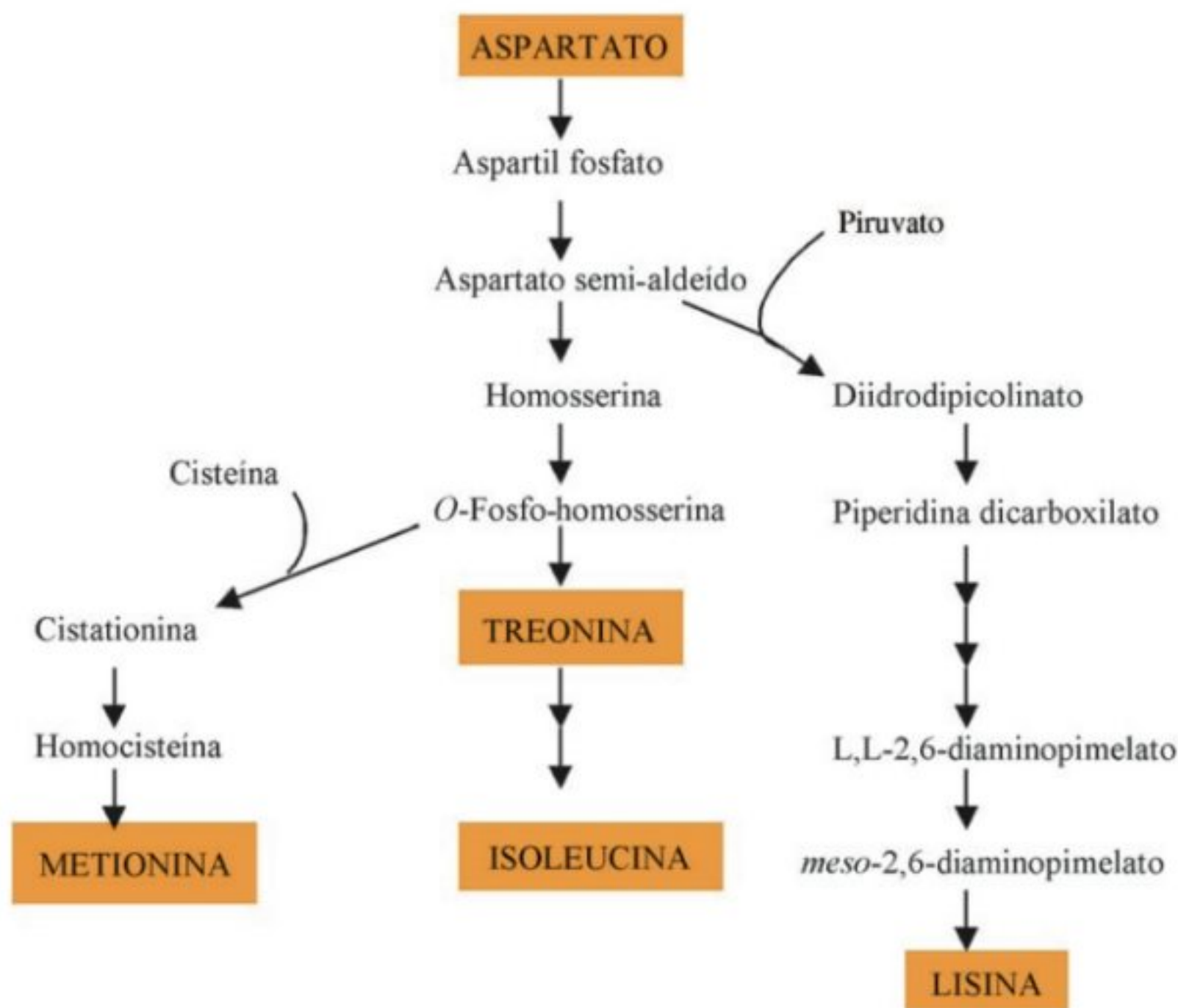
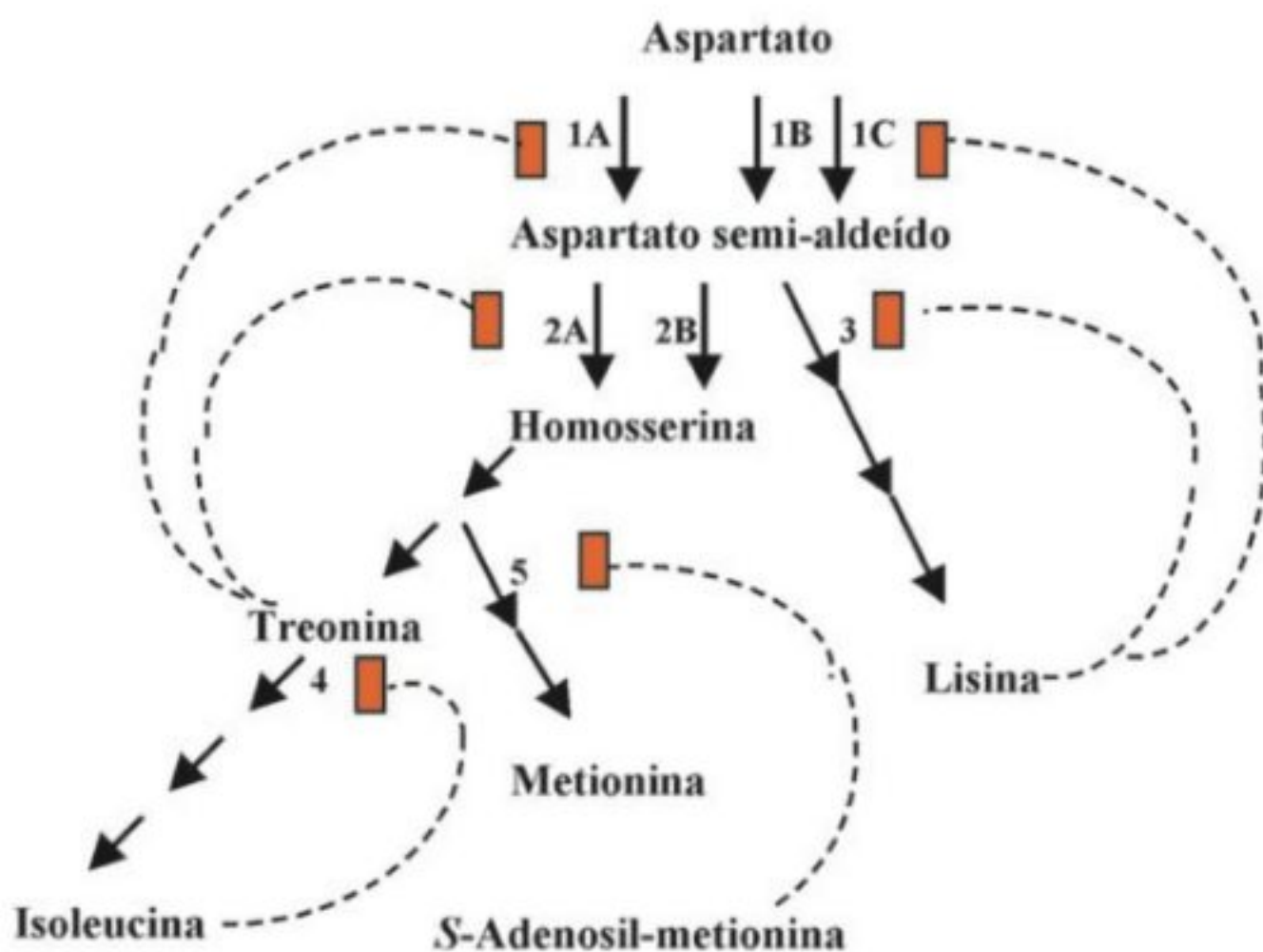


FIGURA 4.8

Biossíntese de lisina, treonina, isoleucina e metionina.

**FIGURA 4.9**

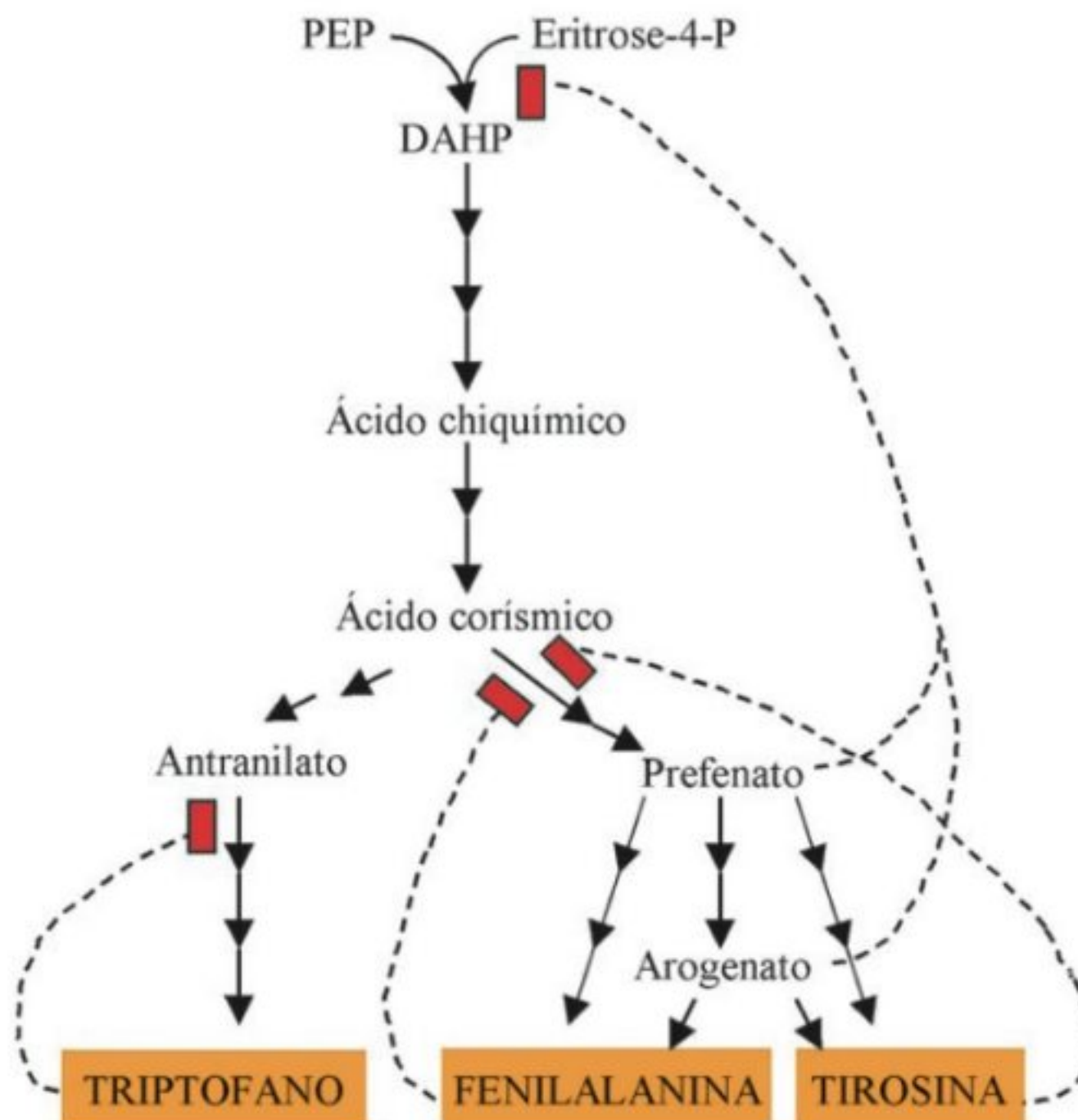
Regulação da biossíntese dos aminoácidos da família do aspartato. Enzimas-chaves: 1. cinase do aspartato (3 isoenzimas: A – sensível à treonina; B e C – sensíveis à lisina); 2. desidrogenase da homosserina (2 isoenzimas: A – sensível à treonina, B – resistente à treonina); 3. sintase do diidropicolinato; 4. desidratase da treonina; 5. cistationina- γ -sintase. Obs.: as isoenzimas cinase do aspartato-A (1A) e desidrogenase da homosserina-A (2A) são um só polipeptídeo bifuncional, ou seja, com dois domínios, um para atividade de cinase do aspartato e outro com atividade de desidrogenase da homosserina, sendo ambas as atividades inibidas por treonina.

que nem a lisina nem a treonina prejudiquem a síntese da outra, é evidente que lisina e treonina juntas prejudicam a síntese de metionina. Isso é bem conhecido em plantas, pois o cultivo de calos de arroz ou plântulas de cevada *in vitro* com lisina e treonina juntas no meio de cultivo leva à forte inibição do crescimento. A inclusão de metionina no meio elimina completamente essa inibição.

A biossíntese de isoleucina será tratada junto com a leucina, tendo em vista que seus passos metabólicos são idênticos.

Família dos aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina e triptofano

Os aminoácidos “aromáticos” fenilalanina, tirosina e triptofano são sintetizados a partir de fosfoenolpiruvato (PEP) e eritrose-4-fosfato, intermediários, respectivamente, da glicólise e do ciclo de Calvin e da via das pentoses-fosfato. O caminho é bastante longo e apenas alguns intermediários-chaves estão incluídos no esquema (Fig. 4.10):

**FIGURA 4.10**

Biossíntese do triptofano, fenilalanina e tirosina (aminoácidos aromáticos).

A regulação da via biossintética em plantas não é bem conhecida. A primeira enzima, a *sintase do 3-desoxi-arabino-heptulose* (sintase do DHAP) aparentemente tem duas isoformas, uma inibida pelo pefenato e arogenato, os precursores da fenilalanina e tirosina. Apesar de duas rotas metabólicas para a formação de fenilalanina e tirosina a partir do pefenato, o caminho via arogenato parece ser o mais importante para várias plantas na formação de tirosina e fenilalanina, onde inclusive esses dois aminoácidos regulam sua própria biossíntese. Dessa forma, a regulação no início da via pelos dois aminoácidos ocorre de forma indireta, via arogenato. A ação do triptofano nesse mecanismo é menos conhecida. Sabe-se que atua como inibidor da enzima *sintase do antranilato*, a primeira enzima da ramificação que leva à sua síntese. A primeira enzima da via, sintase do DHAP (além de outras da via), é induzida por diversos estresses, como injúria e infecções por patógenos, em função da importância desse caminho metabólico na produção de metabólitos secundários (a partir de fenilalanina, principalmente), os quais se acumulam nos tecidos das plantas nessas condições.

Família do glutamato: prolina, arginina e glutamina

A formação de glutamina a partir do glutamato faz parte do processo de assimilação de NH_4^+ , já detalhada.

A prolina pode ser sintetizada a partir de glutamato por duas vias paralelas, uma direta e a outra via ornitina (Fig. 4.11). A principal diferença entre as duas vias está na acilação dos intermediários de uma delas. Pela via direta, após formação de glutamato semi-aldeído, a molécula se transforma numa estrutura cíclica (Δ^1 -pirolina-5'-carboxilato), precursora da prolina. A estrutura cíclica é formada pela reação intramolecular (não-enzimática) dos grupos amino e aldeído do glutamato semi-aldeído. Na via dos derivados acetilados, a presença do grupo acetil ligado ao grupo 2-amino impede essa reação interna, e uma estrutura aberta, a ornitina, é formada. A ornitina pode ainda levar à formação da estrutura cíclica da prolina após perda do grupo amino por transaminação. A ornitina também é precursora da arginina, formada após a intro-

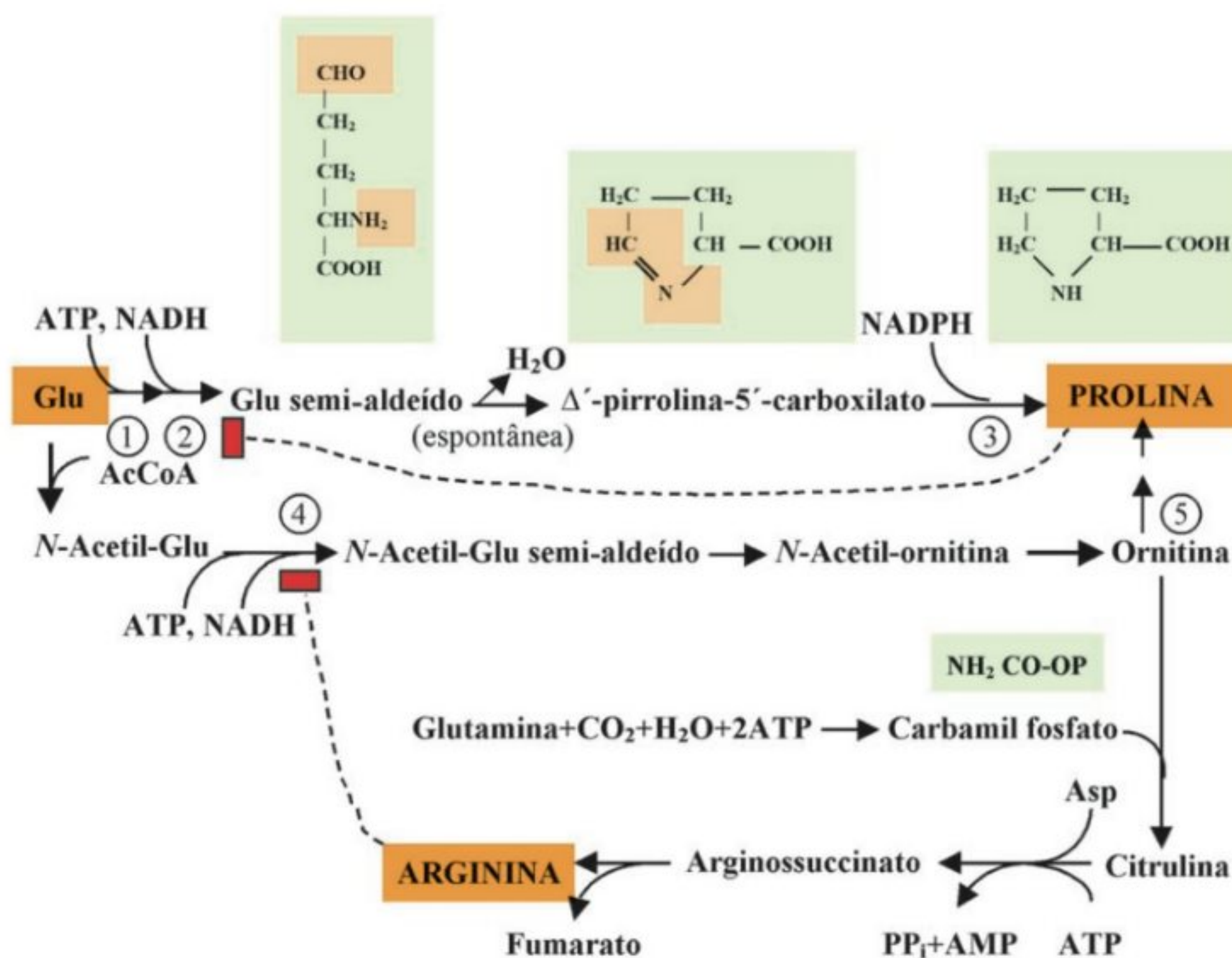


FIGURA 4.11

Biossíntese de prolina e arginina.

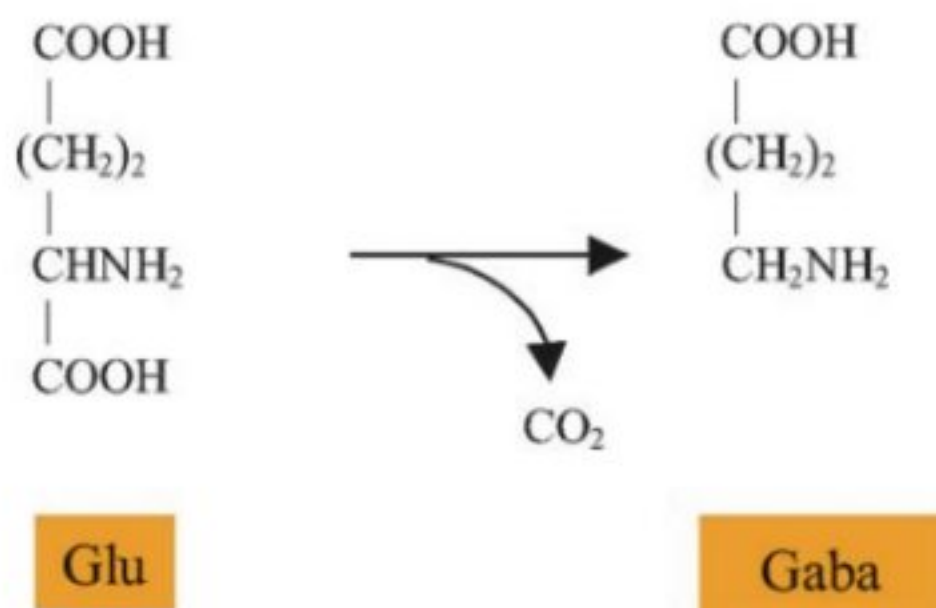
1. cinase de γ -glutamil; 2. desidrogenase do glutamato semi-aldeído; 3. redutase do P5C; 4. cinase do N-acetil-glutamato; 5. aminotransferase da ornitina.

dução de mais dois grupos amino, um a partir de carbamil fosfato e o outro do aspartato.

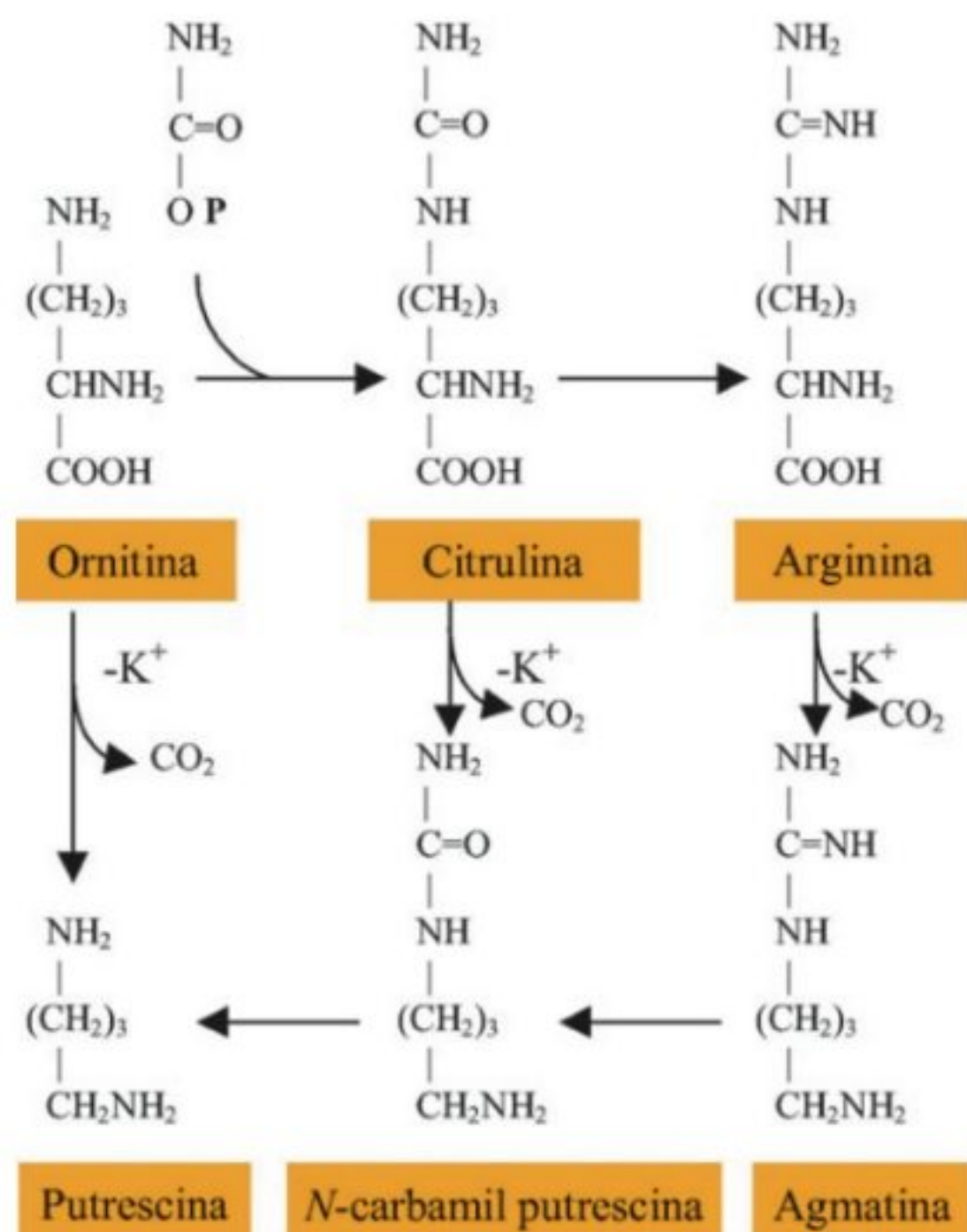
A regulação da síntese dos aminoácidos dessa família foi pouco estudada. Sabe-se que a primeira enzima da via da síntese da prolina, a *sintetase de pirrolina-5-carboxilato*, uma enzima bifuncional com atividade de *cinase de γ -glutamil* e *desidrogenase do glutamato semi-aldeído*, é inibida pela prolina. A arginina inibe fortemente a primeira enzima da sua síntese, a cinase do *N-acetil-glutamato*.

A síntese de prolina tem uma importância especial em plantas, pois está estreitamente relacionada com o potencial hídrico dos tecidos. Plantas em condições de estresse hídrico ou salino apresentam elevados teores de prolina em comparação com plantas em condições normais. Esse fenômeno parece estar relacionado com um mecanismo de proteção contra a falta de água, pois a prolina ajuda a baixar o potencial hídrico dos tecidos e, assim, reter a água. Não é por acaso que a solubilidade da prolina é muito superior (162 g/100 ml) à dos outros aminoácidos protéicos (na faixa de <1 a 25 g/100 ml). Embora as duas vias de síntese de prolina sejam igualmente importantes em condições normais, as evidências favorecem a via direta do glutamato (sem acetilação) em condições de estresse hídrico.

Há outras formas de estresse associadas a mudanças no metabolismo de aminoácidos dessa família. No caso da hipóxia é comum o acúmulo de ácido gama-aminobutírico (Gaba), resultado da descarboxilação de glutamato. Isso ocorre, por exemplo, em campos alagados, onde o sistema radicular ou até a planta inteira fica encharcada ou submersa, o que diminui a disponibilidade de oxigênio. Como o pH da célula baixa nessas condições, a transformação de glutamato (ácido) em Gaba (neutro) pode ter algum papel na regulação do pH.



Um fenômeno semelhante ocorre na deficiência de K^+ . Nesse caso são os aminoácidos ornitina e arginina que são descarboxilados, levando à formação de grande quantidade de putrescina e agmatina. Essas duas diaminas, em função da sua natureza básica, ajudam a combater a acidificação do citossol provocada pela falta de K^+ , para equilibrar as cargas dos ácidos orgânicos. Embora a putrescina e agmatina sejam derivadas da ornitina e arginina, a putrescina pode também ser formada a partir da descarboxilação da citrulina ou, ainda, via agmatina:



Família do piruvato: leucina, valina e alanina

A formação de alanina a partir de piruvato ocorre diretamente pela transaminação, já abordada. Assim como o Gaba, alanina é produzida em quantidades elevadas em condições de hipóxia.

A biossíntese de leucina e valina inicia-se com piruvato, segue alguns passos em comum antes da bifurcação que leva à formação dos dois aminoácidos (Fig. 4.12). Na mesma figura está representado o caminho biossintético da isoleucina, que, embora pertença à família do aspartato, é tratada aqui porque os passos metabólicos, a partir do 2-oxogutarato, não são apenas idênticos aos da valina, mas catalisados pelas mesmas enzimas. A regulação dessa via metabólica é complexa e não foi totalmente elucidada. A desidratase da treonina é inibida pela isoleucina. A leucina inibe a primeira enzima cometida à sua biossíntese, a *sintase do 2-isopropilmalato*. Tanto a leucina como a valina inibem a primeira enzima da seqüência de reações em comum, *sintase do acetolactato* (Fig. 4.12, n^o1); porém, na presença dos dois aminoácidos, ocorre um efeito sinérgico, no qual a inibição é maior do que a soma de cada um isoladamente.

Família do 3-fosfoglicerato: serina, glicina e cisteína

O agrupamento de serina, glicina e cisteína é fácil justificar em função da proximidade metabólica desses aminoácidos, porém a definição do precursor é difícil, pois, conforme o tecido da planta, o esqueleto de carbono pode ser derivado de 3-fosfoglicerato (3PGA) ou ribulose bisfosfato (RuBP) (Fig. 4.13).

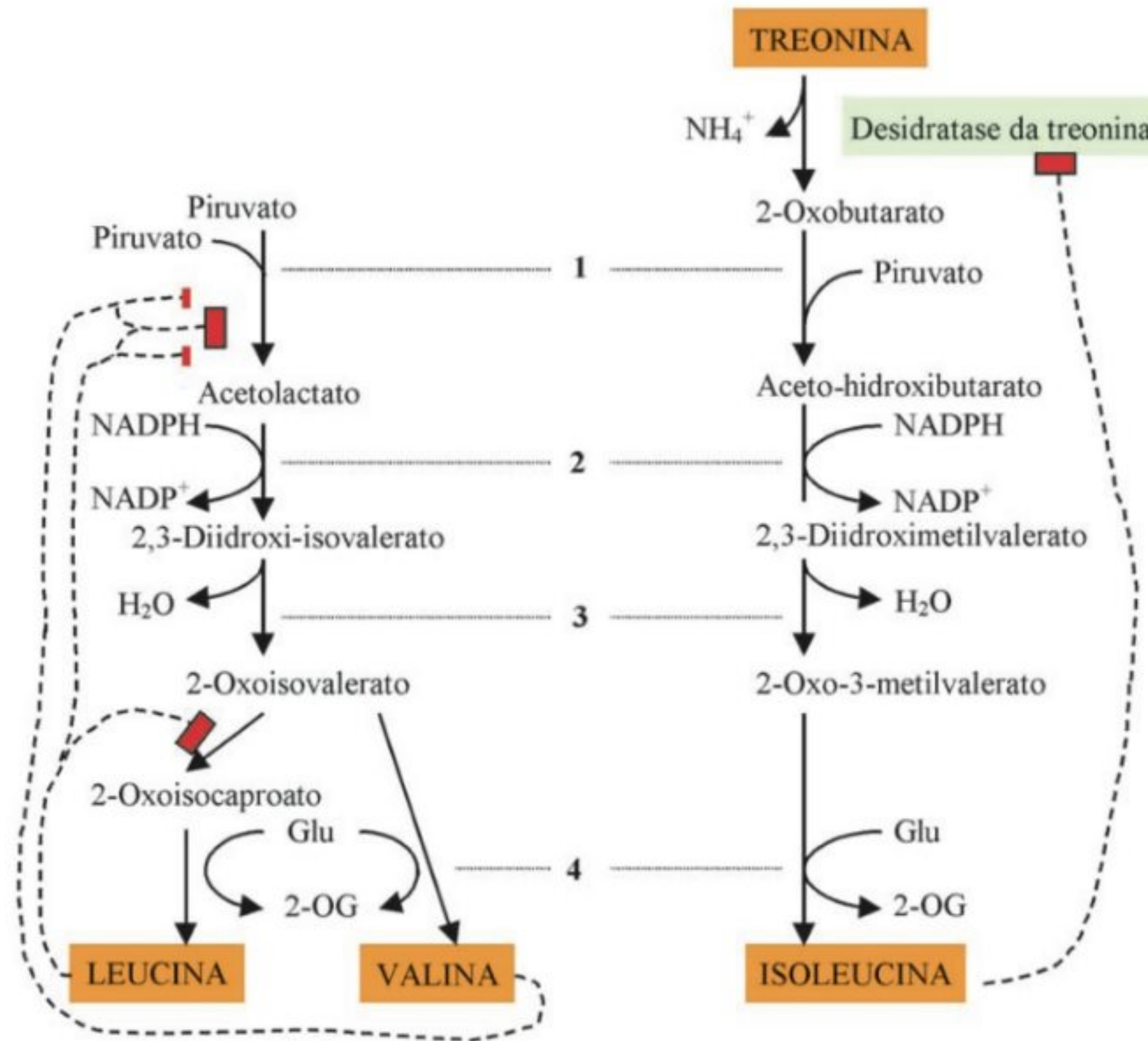


FIGURA 4.12

Biossíntese de valina, leucina e isoleucina. As enzimas das reações 1 a 4 são as mesmas para os dois caminhos biossintéticos.

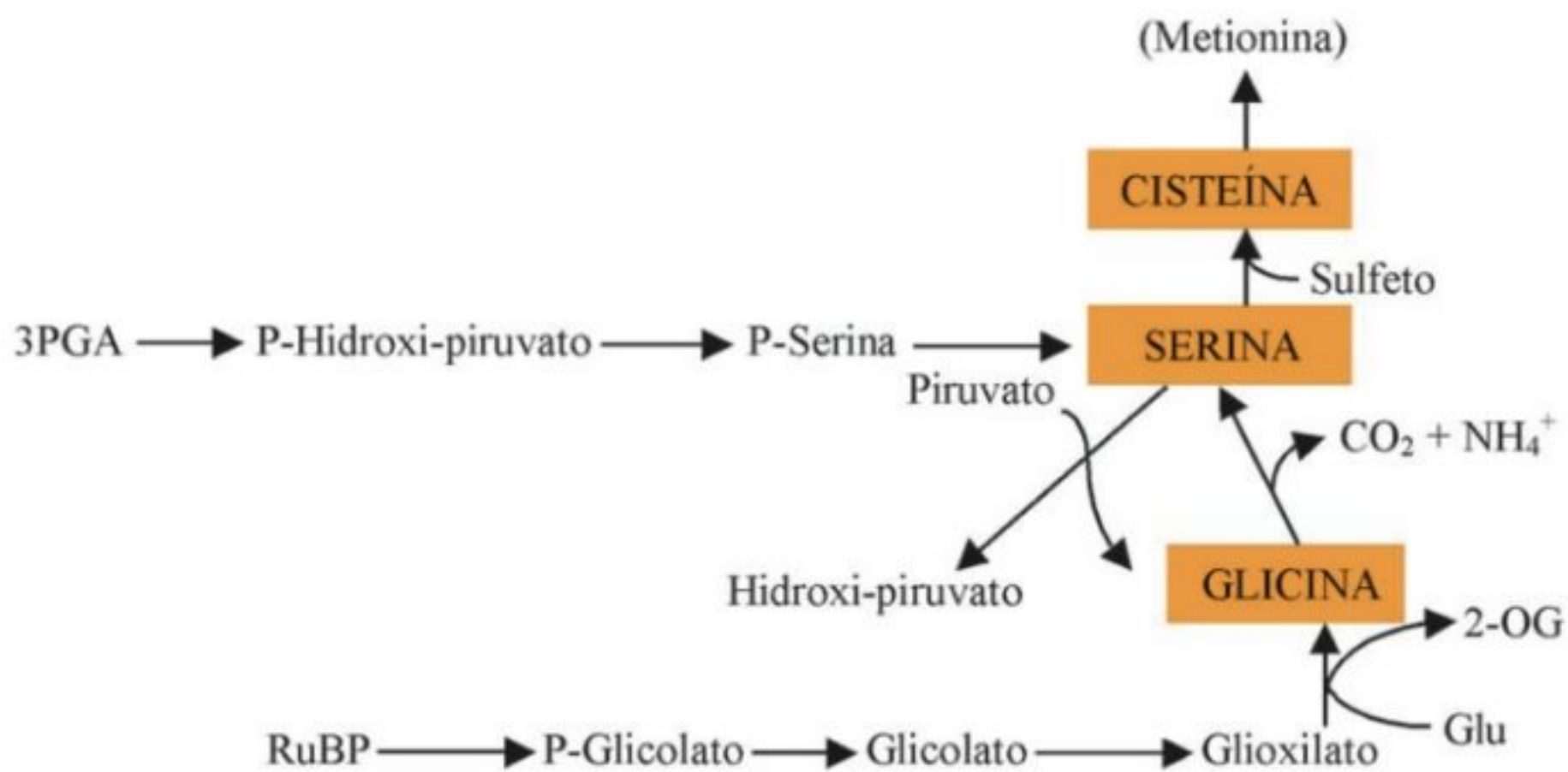
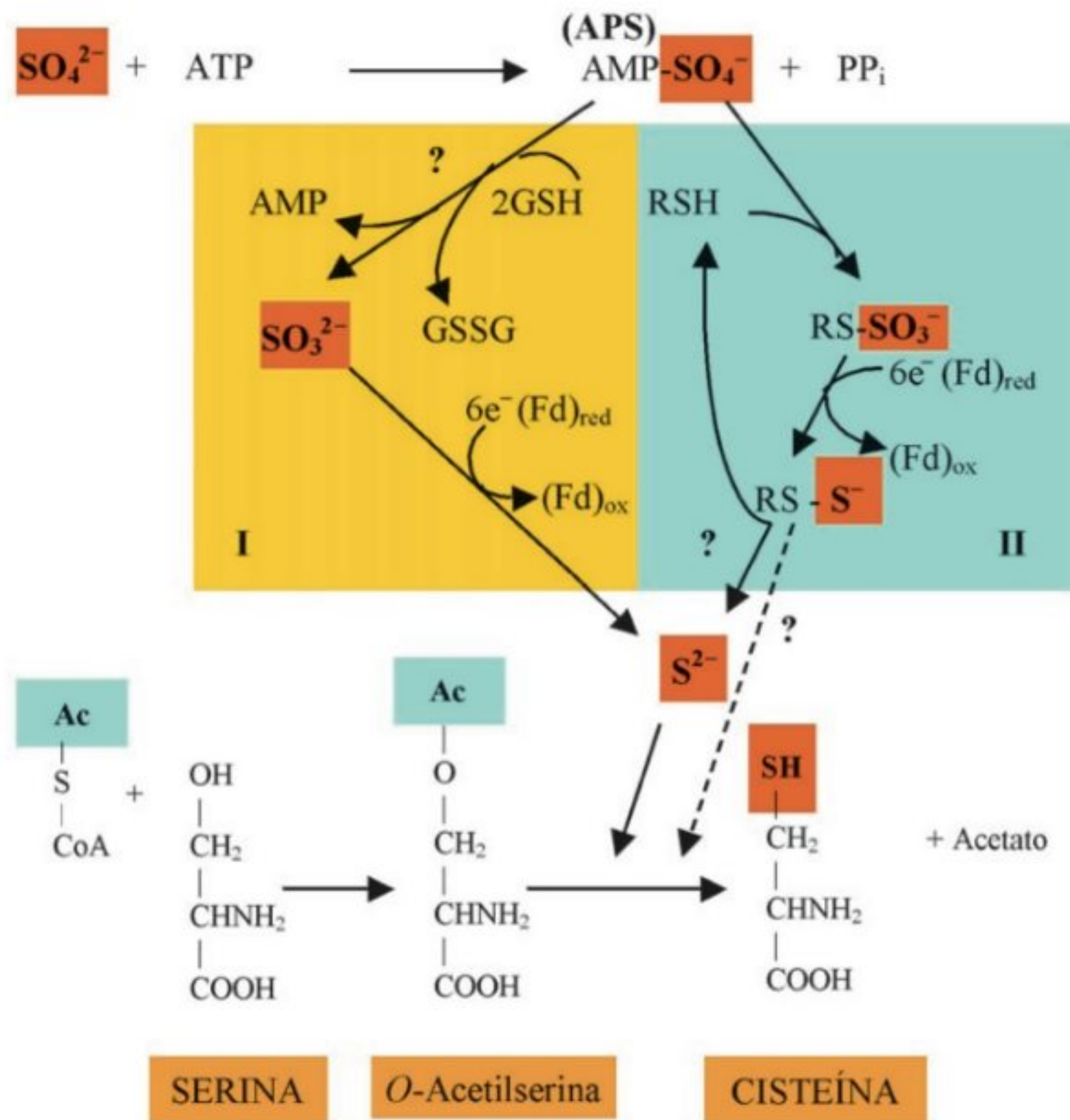


FIGURA 4.13

Biossíntese de glicina, serina e cisteína.

**FIGURA 4.14**

Assimilação do enxofre. As duas hipóteses para a redução de sulfato (SO_4^{2-}) até sulfeto (S^{2-}) estão destacadas por cores diferentes.

Família da ribose-5-fosfato: histidina

A histidina é um caso à parte pelo fato de seu metabolismo ser isolado dos demais aminoácidos e não pertencer a nenhuma “família”. A histidina é o aminoácido que menos chamou atenção dos pesquisadores e, portanto, quase não existem trabalhos a respeito da biossíntese desse aminoácido em plantas. Por analogia com o caminho elucidado em bactérias, a histidina está indicada na Fig. 4.7 como sendo derivada de ribose-5-P.

ASSIMILAÇÃO DO ENXOFRE

O metabolismo do enxofre em plantas tem os aminoácidos cisteína e metionina como peças fundamentais, o que justifica a abordagem da sua assimilação neste capítulo. Além disso, a assimilação do enxofre segue um caminho muito parecido ao daquele do NO_3^- .

A planta retira o enxofre do ambiente na forma de sulfato (SO_4^{2-}). Esse íon é absorvido pela raiz por transporte ativo mediado por uma proteína transportadora e o processo envolve o co-transporte de três prótons para cada molécula de SO_4^{2-} . Sua redução e assimilação ocorrem nos plastídeos da raiz e cloroplastos da folha, após transporte via xilema até a parte aérea. Dentro da organela, o SO_4^{2-} é reduzido para sulfeto (S^{2-}) numa seqüência de reações

envolvendo ATP e ferredoxina, embora alguns detalhes dessa redução sejam controversos (Fig. 4.14). A seqüência se inicia com a “ativação” do SO_4^{2-} por ATP, formando APS, e o SO_4^{2-} é reduzido em seguida ao S^{2-} por um caminho ainda não esclarecido. Existem duas hipóteses: pela primeira, o SO_4^{2-} é transferido para um carregador ao qual permanece ligado até sua redução e liberação como S^{2-} ; pela segunda, o SO_4^{2-} de APS é reduzido e liberado como sulfito (SO_3^{2-}), sendo o SO_3^{2-} livre reduzido a S^{2-} .

Finalmente, o S^{2-} (ou o S^{2-} ligado ao carregador) junta-se com uma molécula de serina para formar cisteína. Normalmente não há acúmulo de cisteína, pois ela é rapidamente utilizada na biossíntese de metionina ou transformada em glutathione (um tripeptídeo composto de glutamato+cisteína+glicina).

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Buchanan BB, Grissen W, Jones RL (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland. 2000.
- Lea PJ. Nitrogen metabolism. In: Lea PJ, Leegood RC (eds.). *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. England, Wiley 1993, pp.155-180.
- Lea PJ. Primary nitrogen metabolism. In: *Plant Biochemistry*. Academic Press, 1997, pp.273-313.

- Lea PJ, Ireland R. Nitrogen metabolism in higher plants. In: Singh BK (ed.). *Plant Amino Acids Biochemistry and Biotechnology*. New York, Marcel Dekker, 1999, pp.1-47.
- Ireland R. Amino acid and ureide biosynthesis. In: Dennis DT, Turpin DH (eds.). *Plant Physiology Biochemistry and Molecular Biology*. London, Longman, 1990, pp.407-421.
- Ireland R, Lea PJ. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine, and aspartate metabolism. In: Singh BK (ed.). *Plant Amino Acids Biochemistry and Biotechnology*. New York, Marcel Dekker, 1999, pp.49-109.
- Schubert KR. Products of biological nitrogen fixation in higher plants: synthesis, transport, and metabolism. *Annual Review of Plant Physiology*, 1986; 37:539-574.
- Smirnoff N, Stewart GR. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Plant Physiology*, 1985; 64: 133-140.

CAPÍTULO 5

Fotossíntese

Nidia Majerowicz

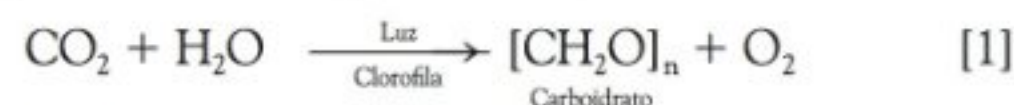
O QUE MOVE A VIDA?

A fonte universal de energia da biosfera é o sol. Com exceção das bactérias químio-autotróficas, toda a vida em nosso planeta é direta ou indiretamente dependente da fotossíntese dos organismos clorofilados. Até mesmo as fontes de energia que movimentam as máquinas do nosso cotidiano, tais como o petróleo, o gás natural e o carvão mineral, são produtos da fotossíntese realizada por organismos que viveram milhões de anos atrás.

Os organismos vivos são sistemas organizados, em permanente estado de não-equilíbrio termodinâmico. A manutenção dessa condição, ou seja, da vida, exige a entrada de um fluxo contínuo de energia livre. Em geral, os processos naturais são espontâneos. De acordo com a segunda lei da Termodinâmica, os processos espontâneos tendem a ir de uma condição de alta energia para uma condição de baixa energia, dissipando energia térmica durante o processo, até que a condição de equilíbrio seja alcançada. Assim, todos os sistemas tendem a se desorganizar, a se tornar cada vez mais caóticos. Isso significa que a degradação e a desorganização são processos espontâneos nas células, nos ecossistemas, no Universo, e que a organização dos sistemas biológicos encontra-se permanentemente ameaçada. A manutenção da organização, o crescimento e a construção de estruturas complexas só podem ocorrer à custa de um influxo constante de energia a partir do meio ambiente.

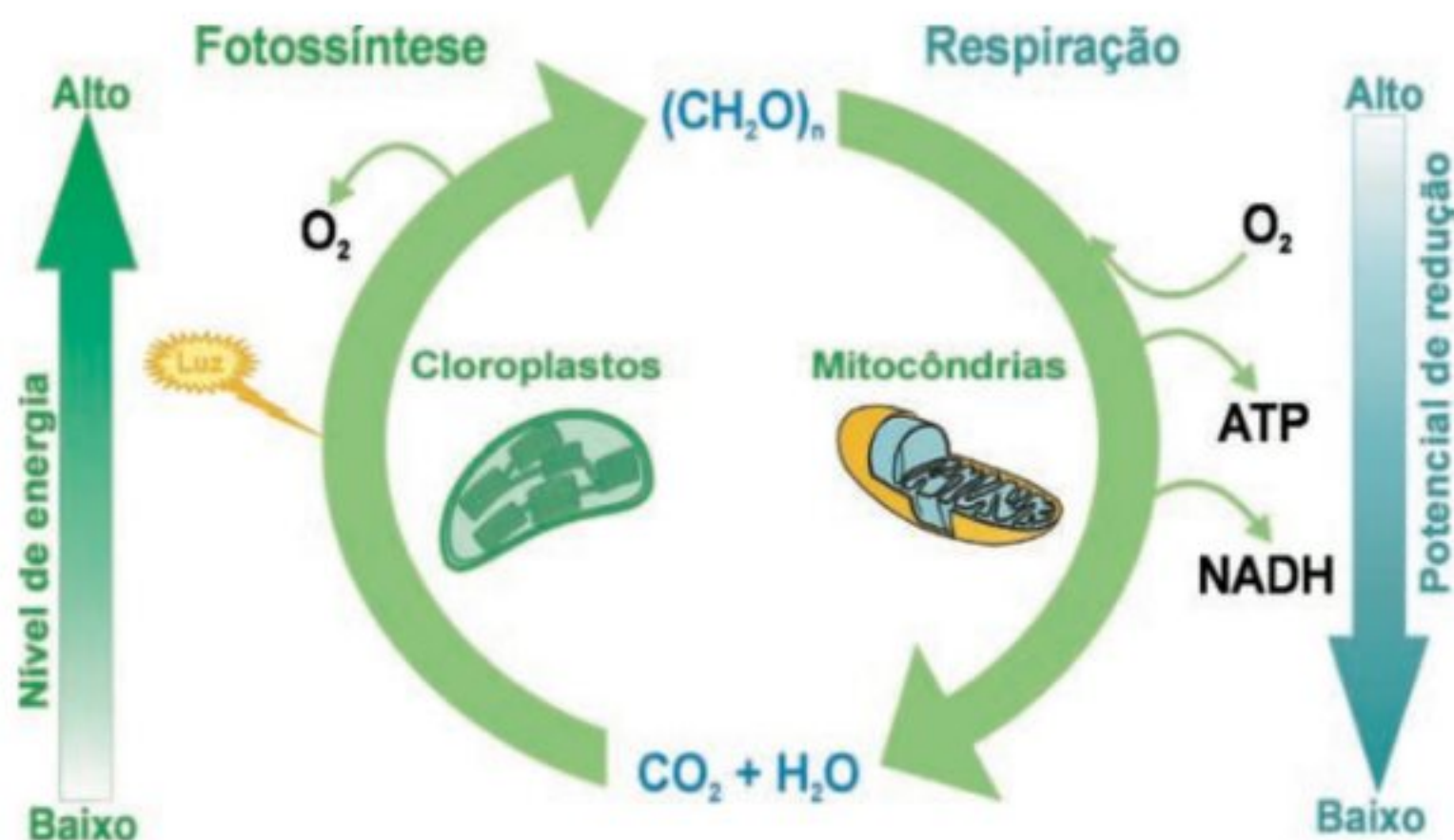
Os organismos não-fotossintetizantes (heterotróficos), como os animais, fungos e bactérias, são dependentes de moléculas orgânicas pré-formadas, obtidas através da alimentação ou absorção, para o suprimento de suas demandas permanentes de energia e de matérias-primas. A degradação de moléculas orgânicas ricas em energia, através da fermentação ou respiração aeróbia, é responsável pela liberação da energia utilizada por esses organismos (Fig. 5.1).

A atividade fotossintética das plantas, das algas e de algumas bactérias promove a conversão e o armazenamento da energia solar em moléculas orgânicas ricas em energia, a partir de moléculas inorgânicas simples, como o CO_2 e a H_2O . Somente esses organismos são capazes de transformar energia luminosa em energia química, aumentando assim a energia livre disponível para os seres vivos como um todo. A reação global da fotossíntese (excetuando-se as bactérias fotossintetizantes anaeróbias) pode ser representada da seguinte forma:



Através do fluxo de energia solar, canalizado pela fotossíntese, compostos com baixo nível de energia são convertidos em compostos orgânicos ricos em energia, como os carboidratos. A energia é armazenada nas ligações químicas das moléculas dos carboidratos.

Nos cloroplastos, presentes em todas as células fotossintetizantes eucarióticas, a energia radiante absorvida pelos pigmentos fotossintéticos é utilizada para converter CO_2 e água em carboidratos e outras moléculas orgânicas. A fotossíntese transforma moléculas oxidadas, com baixo conteúdo de energia, em moléculas com elevado poder redutor e conteúdo de energia. Nesse processo, a luz impulsiona elétrons para níveis mais elevados de energia, caracterizando-se aí um processo termodinâmico não-espontâneo. O oxigênio liberado para a atmosfera nada mais é do que um subproduto das reações fotossintéticas. As mitocôndrias, presentes em todas as células eucarióticas, degradam os carboidratos, transferindo a energia anteriormente armazenada nas ligações de carbono para moléculas de ATP. O processo de respiração celular consome oxigênio e, ao produzir CO_2 e água, completa o ciclo. Compostos ricos em energia dão origem a moléculas com baixo conteúdo de energia. A respiração é, assim, um processo termodinamicamente espontâneo. Em cada transfor-

**FIGURA 5.1**

Respiração e fotossíntese são processos biológicos de conversão de energia com vetores termodinamicamente opostos.

mação, parte da energia é dissipada para o ambiente na forma de calor. Assim, o fluxo de energia biológica tem um sentido único, só podendo ter continuidade se houver influxo permanente de energia solar (Fig. 5.1).

FOTOSSÍNTESE: UM PROCESSO DE OXIDAÇÃO-REDUÇÃO

A simplicidade da equação global da fotossíntese [1] não reflete a grande complexidade do processo fotossintético que envolve numerosas reações de conversão de energia e bioquímicas. Tanto a fotossíntese quanto a respiração celular são constituídas por um conjunto de reações de redução e oxidação seqüenciais – reações *redox*. A redução é a transferência de um elétron (e^-) ou de um elétron junto com um próton (H^+) de uma molécula doadora (D) para uma molécula receptora (R). Diz-se que a molécula doadora foi *oxidada* e que a molécula receptora foi *reduzida*, o que pode ser representado da seguinte forma:

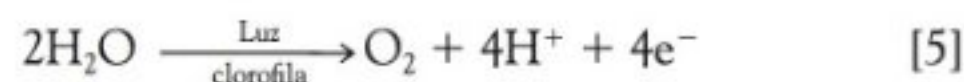


As reações de oxidação e redução são de fundamental importância para que possamos compreender os mecanismos fotossintéticos. A reação primária da fotossíntese, por exemplo, é uma reação de transferência de elétrons entre uma forma especial de clorofila e uma molécula receptora específica (Fig. 5.2). Ao receberem luz, os elétrons das moléculas de clorofila são excitados. De modo específico, as moléculas especiais de clorofila, localizadas no coração do processo fotossintético (*centros de reação* – CR), ejetam elétrons ao serem excitadas pela luz. Tornam-se, assim, oxidadas, e as moléculas receptoras tornam-se reduzidas. Na seqüência, os elétrons são transferidos para os carreadores do processo fotoquímico, gerando energia química. É importante destacar que as moléculas de clorofila dos CR oxidadas pela luz

são imediatamente reduzidas, tendo a sua neutralidade restaurada e permitindo que o processo se repita de modo cíclico. Na maioria dos organismos fotossintetizantes (cianobactérias, algas e plantas), a molécula doadora de elétrons para a clorofila especial do CR é a água, através de um processo de fotooxidação. Entretanto, as bactérias fotossintetizantes primitivas, anaeróbias, utilizam vários outros compostos como fontes de elétrons (H_2 , H_2S , moléculas orgânicas etc.) para a restauração da neutralidade da clorofila especial dos CRs, e não a água, conforme exemplificado na Fig. 5.2 e na seguinte equação:



As bactérias que utilizam o H_2S como fonte redutora produzem o enxofre elementar como produto da fotossíntese. Já os organismos que utilizam a água como fonte redutora geram o O_2 que é liberado para a atmosfera:



Com a oxidação da água, promovida pela luz, além da liberação de O_2 e de elétrons, há um acúmulo de H^+ no interior dos cloroplastos. Conforme veremos adiante, o gradiente de concentração de H^+ formado no interior de cloroplastos constitui a força motriz para a síntese das ligações de alta energia do ATP.

FOTOSSÍNTESE: UM PROCESSO EM DUAS ETAPAS

Já no início do século XX, mais precisamente em 1905, um pesquisador inglês chamado Blackman, interpretando os seus resultados experimentais, concluiu que a fotossíntese é um processo que se dá em duas etapas interdependentes. As reações responsáveis pela transformação da energia solar em energia química integram a *etapa fotoquímica* da fotossíntese, também conhecida como *reações dependentes de luz*. Durante a etapa fotoquímica, a energia luminosa absorvida pelos pigmentos fotossintéticos é convertida em

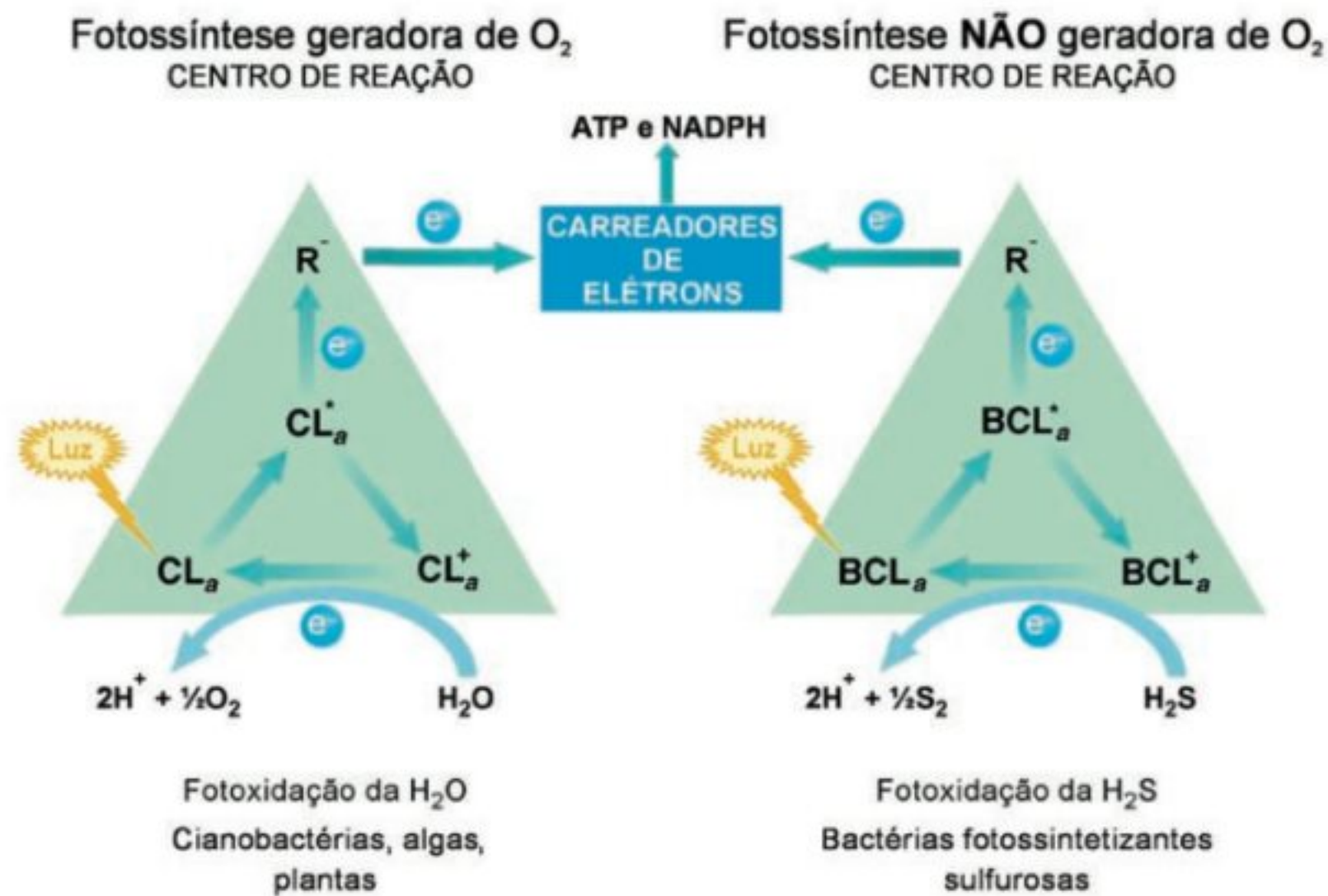


FIGURA 5.2

A reação primária da fotossíntese é uma reação de oxirredução entre moléculas especiais de clorofila *a* (CL_a) ou bacterioclorofila *a* (BCL_a) e moléculas receptoras de elétrons (R) que, na seqüência, transferem os elétrons excitados para outros carreadores. Nos organismos fotossintetizantes geradores de O₂ (cianobactérias, algas e plantas), a molécula doadora de elétrons para a restauração da neutralidade das clorofilas especiais é a água. Mas, nas bactérias fotossintetizantes anaeróbicas, os doadores de elétrons podem ser diferentes moléculas orgânicas ou inorgânicas, como o H₂S.

ATP e NADPH (*poder redutor*). A etapa seguinte é constituída pelas reações enzimáticas de fixação do CO₂ e síntese de carboidratos (*etapa bioquímica*). A etapa bioquímica da fotossíntese é movida pelo ATP e pelo poder redutor gerados durante o processo fotoquímico (Fig. 5.3).

Os diferentes carboidratos gerados na fotossíntese, juntamente com o NO₃⁻, NH₄⁺ e outros sais inorgânicos absorvidos do solo, são matérias-primas para a biossíntese de uma gama

enorme de moléculas orgânicas essenciais (aminoácidos, lipídios, pigmentos, celulose, proteínas, ácidos nucleicos, hormônios etc.), que irão compor a estrutura e o metabolismo, resultando no crescimento e no desenvolvimento dos organismos fotossintetizantes (Fig. 5.4).

Convém destacar que as denominações “reações não-dependentes de luz” ou “reações no escuro” para a etapa bioquímica da fotossíntese, freqüentemente encontradas em muitos textos,

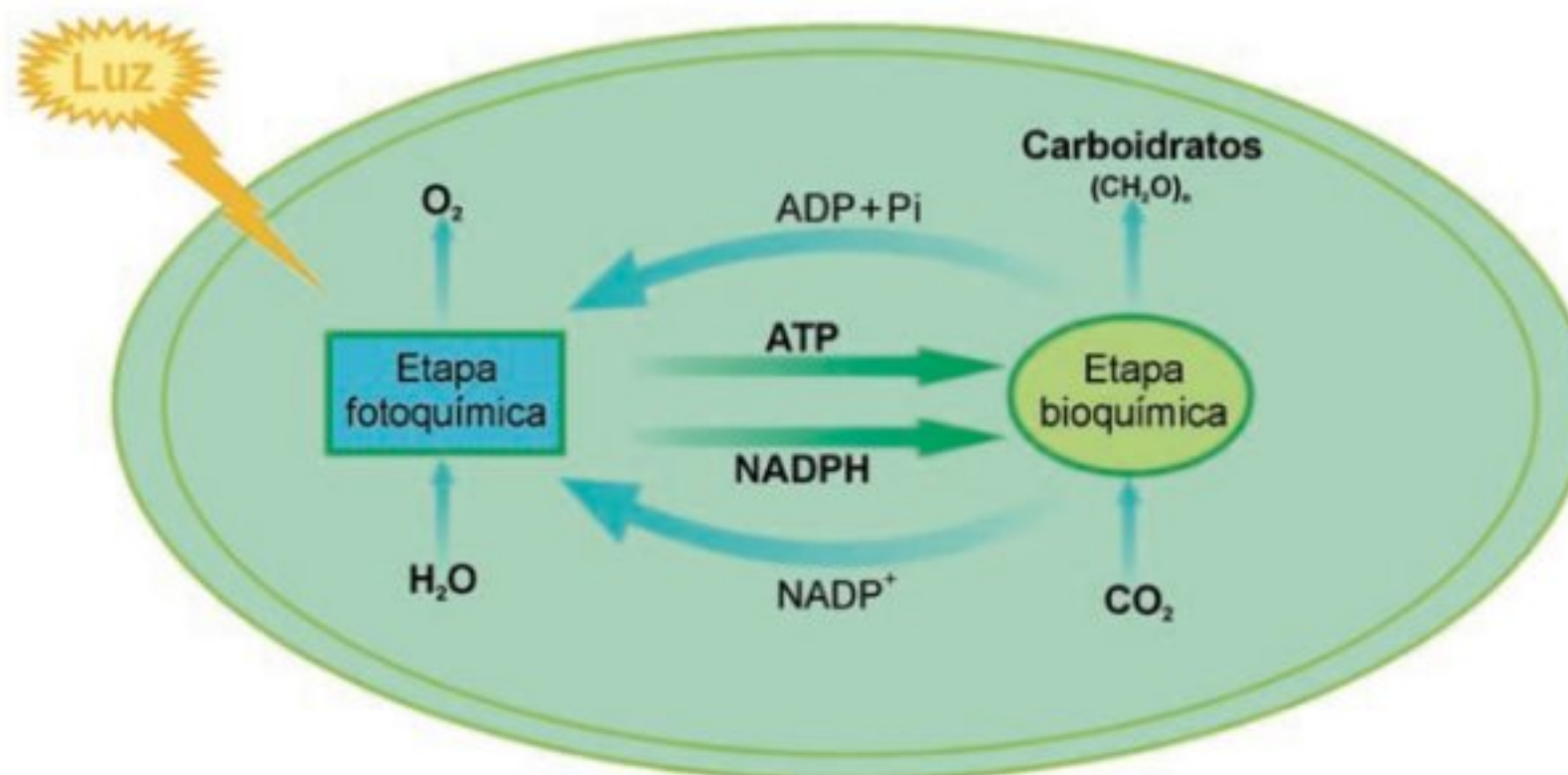


FIGURA 5.3

A fotossíntese é um processo complexo que ocorre em duas etapas interdependentes. Na etapa fotoquímica, a energia dos fótons de luz é transformada em ATP e NADPH nas membranas dos tilacóides. Essas moléculas ricas em energia são necessárias para colocar em movimento as reações bioquímicas que transformam o CO₂ em carboidratos no estroma dos cloroplastos.

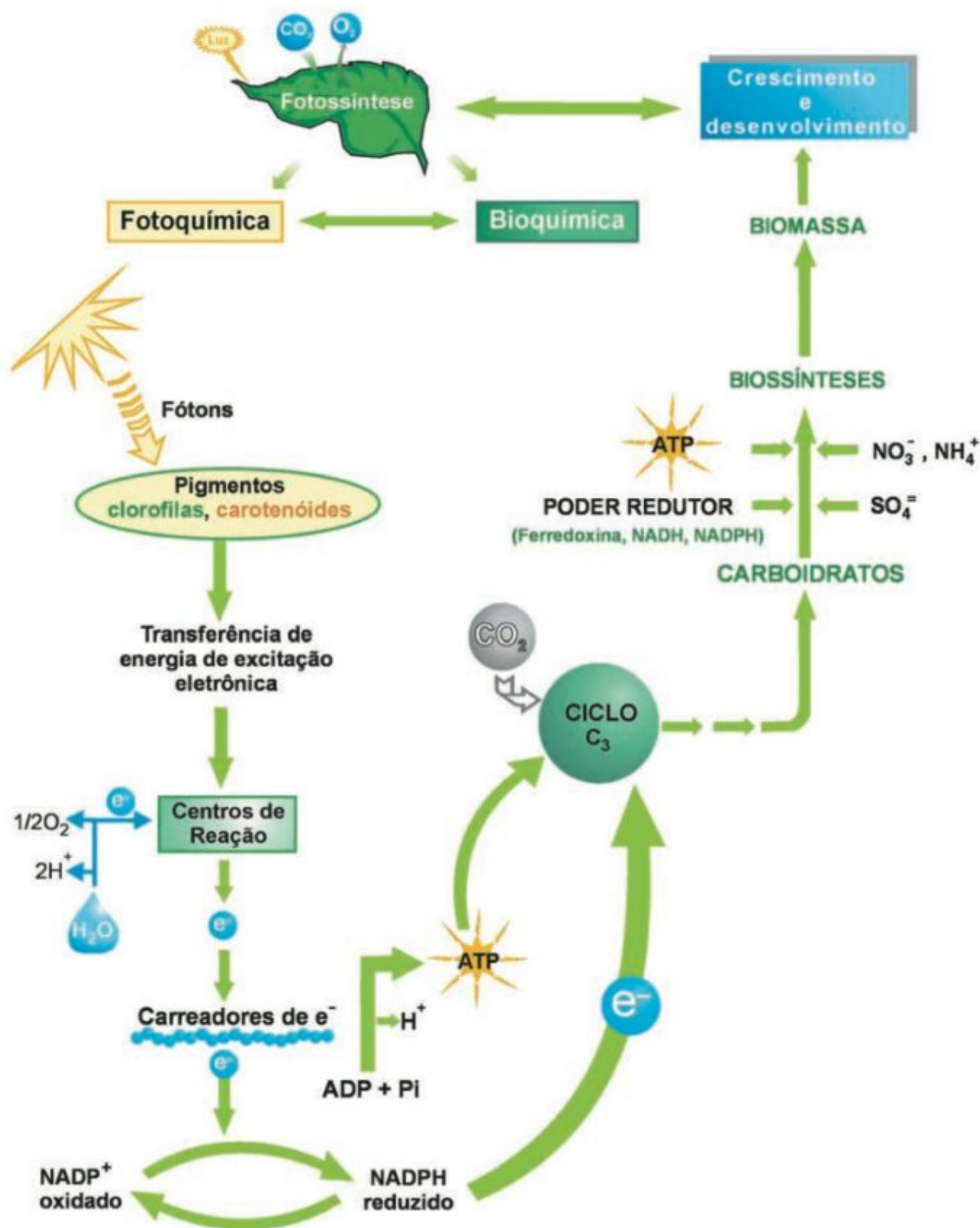


FIGURA 5.4

Principais etapas da fotossíntese e sua relação com a geração de biomassa vegetal. O esquema caracteriza, de modo simplificado e genérico, a conversão de energia luminosa em energia eletroquímica, a interação entre as etapas fotoquímica e bioquímica, bem como a relação entre a fotossíntese, o metabolismo e o crescimento das plantas. (Lawlor, 1987, modificado.)

são muito mais uma decorrência do tratamento experimental dado à fotossíntese do que uma realidade biológica. Em condições naturais, **não** há etapa bioquímica da fotossíntese, ou seja, assimilação de CO_2 , sem a presença de luz. Além da necessidade de ATP e NADPH para a realização das reações enzimáticas, a luz é fundamental para a ativação de enzimas centrais do ciclo de redução do CO_2 .

A fotossíntese se processa simultaneamente em inúmeros níveis de organização, abrangendo desde planta como um todo (p. ex., área total de interceptação da luz solar) a eventos que

ocorrem numa escala de nanômetros (10^{-9} m; p. ex., membranas dos cloroplastos); de eventos que ocorrem numa escala de tempo compreensível para os sentidos humanos (p. ex., acúmulo de biomassa) a processos que ocorrem em bilionésimos de segundo (fluxo fotossintético de elétrons). A compreensão do processo fotossintético depende, portanto, de pesquisas que focalizam diferentes níveis de organização das plantas, do molecular ao organismo como um todo e da integração entre pesquisadores de diferentes áreas da biologia, física, química, matemática e da engenharia.

A fotossíntese, um processo essencial para a vida no planeta, para a sobrevivência e qualidade de vida humana, tem desafiado a ciência e gerado milhares de trabalhos científicos. O volume de informações e a compreensão do processo fotossintético vêm crescendo rapidamente. O caminho que tem sido trilhado pela ciência para compreender a fotossíntese, em todas as suas dimensões, tem sido pontuado por incertezas, polêmicas, problemas técnicos, hipóteses e teorias equivocadas, como ocorre em todas as áreas do conhecimento humano. Mas também tem produzido fabulosos saltos no conhecimento. Há, portanto, a ressaltar que os conceitos e modelos sobre a fotossíntese serão apresentados neste texto de uma maneira objetiva, didática, sem destaque para as contradições, esforços e dificuldades encontradas ao longo do caminho.

O presente capítulo encontra-se subdividido em quatro grandes seções: a primeira descreverá a estrutura anatômica e estrutural da fotossíntese; a segunda abordará a conversão da energia da luz em energia química (etapa fotoquímica); a terceira tratará do metabolismo fotossintético do carbono (ciclos C_3 , C_4 e MAC); e a última abordará os principais aspectos ecofisiológicos associados ao processo fotossintético.

ESTRUTURA DA MÁQUINA FOTOSSINTÉTICA

Os componentes estruturais da fotossíntese formam uma hierarquia com diferentes níveis de organização, de dimensões e complexidade diferentes, que funcionam de modo cooperativo e integrado ao meio ambiente (Fig. 5.5). Nessa discussão, vamos nos limitar a examinar alguns aspectos estruturais relevantes para a compreensão da dinâmica da fotossíntese nas plantas, bem como a sua interação com fatores ambientais importantes. Faremos um breve comentário sobre a estrutura foliar, sob o ponto de vista funcional, e sobre alguns aspectos ultra-estruturais dos cloroplastos.

As folhas

As células das algas e bactérias fotossintetizantes realizam todas as funções fisiológicas indispensáveis para a manutenção e crescimento do organismo. Vivendo em ambiente aquoso ou úmido, além da fotossíntese, essas células absorvem nutrientes, realizam trocas gasosas e controlam o próprio equilíbrio hídrico. Ao invadirem e colonizarem o ambiente terrestre, os organismos fotossintetizantes pluricelulares foram pressionados a desenvolver estruturas e órgãos diferentes que possibilitassem enfrentar os novos desafios impostos para a sua sobrevivência, tais como:

1. A absorção de água e nutrientes do reservatório do solo.
2. A interceptação de luz e trocas gasosas eficientes com a atmosfera, principalmente para a aquisição do CO_2 .
3. Um sistema de transporte que permitisse a circulação da água e dos nutrientes absorvidos do solo, bem como a exportação e a circulação das moléculas orgânicas geradas na fotossíntese no organismo como um todo.

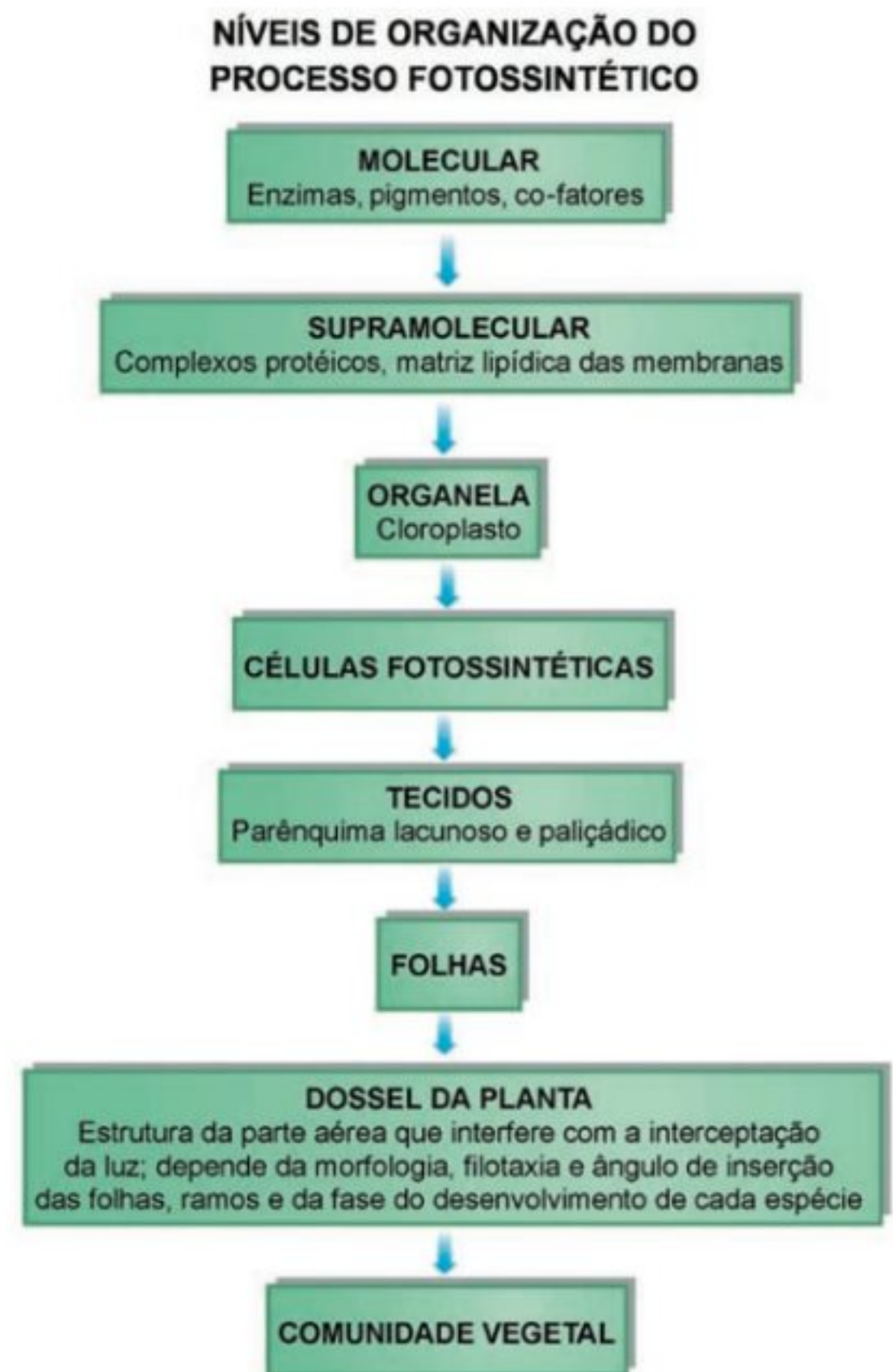


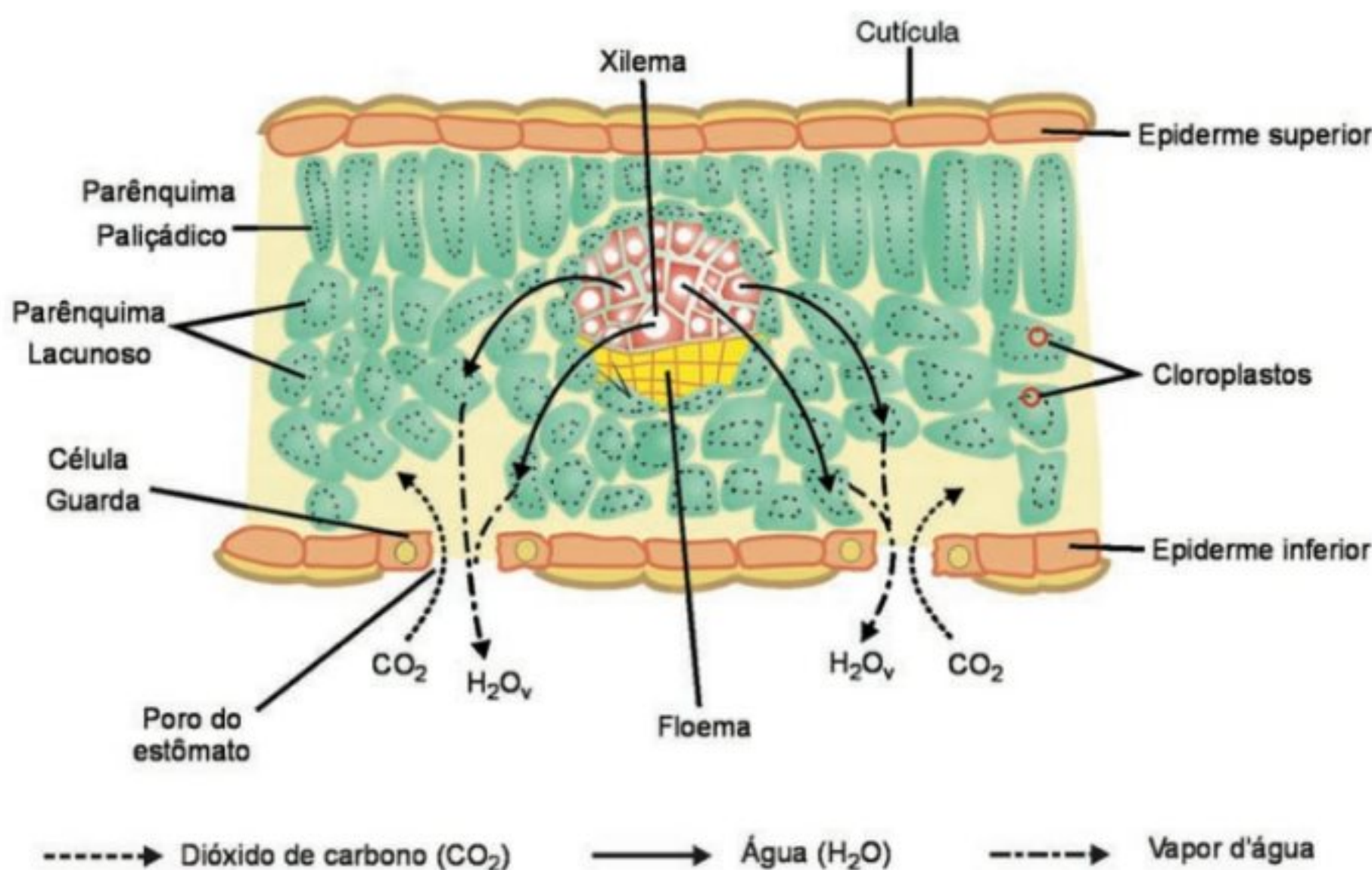
FIGURA 5.5

Os componentes estruturais da fotossíntese organizam-se em diferentes níveis. A fotossíntese envolve desde estruturas e processos de dimensão molecular (enzimas, complexos protéicos) até a planta individual integrada a determinada comunidade vegetal (interceptação da radiação fotossinteticamente ativa).

4. A conservação da água no interior dos tecidos através da impermeabilização de suas superfícies externas.

O processo evolutivo das folhas, como órgãos fotossintéticos, além de incorporar as funções descritas nos itens 2 e 3 anteriormente citados, teve de contemplar, necessária e simultaneamente, mecanismos eficientes de conservação da água nos tecidos foliares (item 4). A água é o principal componente de todas as células, preenchendo os espaços intercelulares e capilares das paredes celulares. A evolução e o funcionamento foliar sempre estiveram, portanto, pressionados por duas demandas essenciais e contraditórias: a maximização da capacidade de absorver luz e o CO_2 a partir da atmosfera, e a capacidade de conservar água nos tecidos numa atmosfera extremamente dessecante.

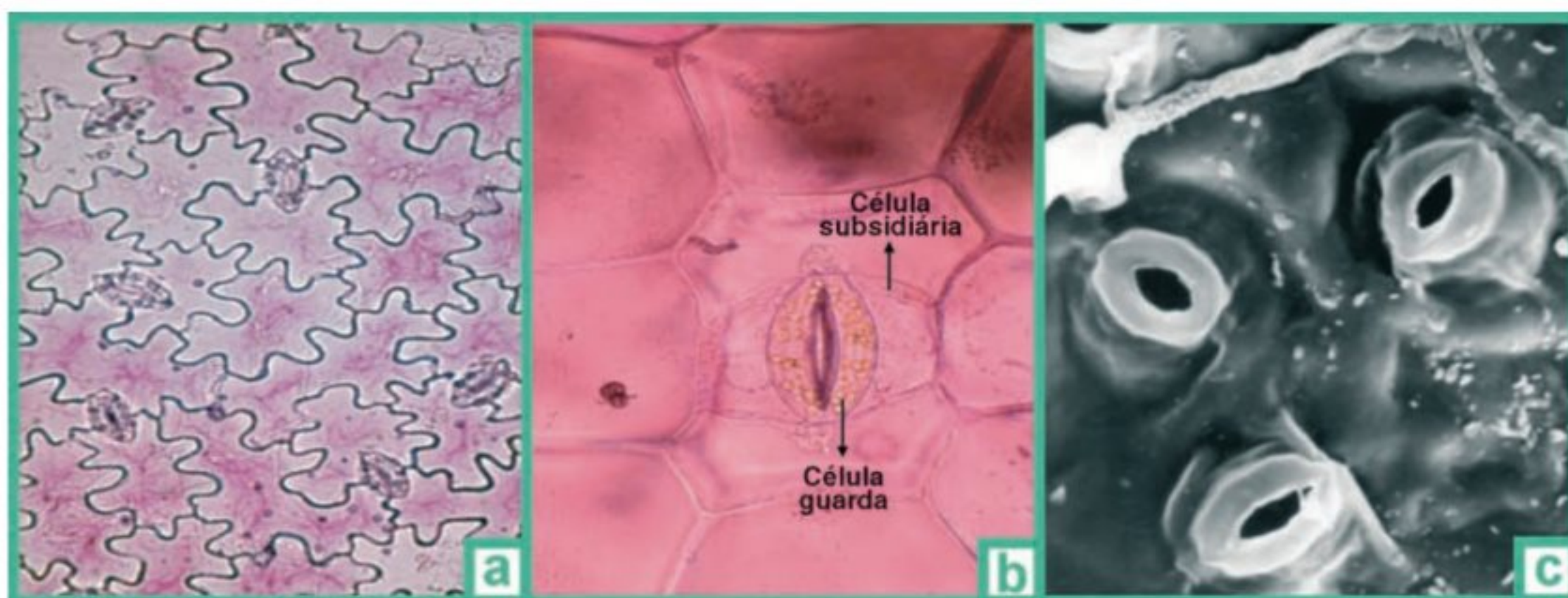
Uma folha típica de uma dicotiledônea é recoberta com uma *epiderme superior* e outra *inferior*, impermeabilizadas em suas faces externas pela *cutícula*, o que minimiza a perda de água (Fig. 5.6). Os tecidos fotossintéticos localizam-se entre as duas camadas

**FIGURA 5.6**

Esquema de corte transversal de uma folha típica de espécie C_4 mostrando a sua estrutura anatômica e as trocas gasosas que influenciam a fotossíntese e o balanço hídrico das plantas. O gás dióxido de carbono (CO_2) e o vapor d'água (H_2O_v) difundem-se, através da abertura dos estômatos, em sentidos opostos.

epidérmicas, podendo organizar-se em camadas colunares, geralmente formadas por uma a três camadas de células, denominadas *parênquima paliádico*, e em camadas de células, com formato irregular, que se dispõem deixando enormes espaços aéreos entre si, denominadas *parênquima lacunoso*. O parênquima paliádico, localizado junto à superfície superior das folhas, geralmente apresenta células com maior número de cloroplastos do que as células do parênquima lacunoso.

Grande parte do dilema entre a maximização da aquisição de CO_2 e a minimização da perda de água pelos tecidos foliares convergiu para a evolução de minúsculas estruturas porosas denominadas *estômatos* (Fig. 5.7). Estes últimos contêm poros que permitem a comunicação entre os espaços aéreos intrafoliares e a atmosfera externa. As superfícies foliares, especialmente a epiderme inferior, são dotadas de milhares de estômatos cujas distribuição e quantidade dependem da espécie e das condições ambientais.

**FIGURA 5.7**

(a) Epiderme de *Catharathus roseus* mostrando vários estômatos (10 \times); (b) detalhe de um estômato evidenciando a presença de cloroplastos nas células guardas (20 \times); (c) epiderme abaxial de *Gomidesia spectabilis*, vista em microscopia eletrônica de varredura, com estômatos em destaque (2.000 \times). (Fotografias a e b gentilmente cedidas pelo Departamento de Botânica da UFRRJ; fotografia c gentilmente cedida pela Prof^a Doria M. S. Gomes.)

Os estômatos têm uma alta capacidade difusiva, o que permite uma intensa troca de gases entre os espaços aéreos intrafoliares e o meio ambiente. O grau de abertura dos estômatos, entretanto, é caracterizado por uma extraordinária versatilidade e por um fino controle em função das condições hídricas da planta, de fatores internos e ambientais. O poro estomático é margeado por um par de células especiais denominadas *células guardas* (Fig. 5.7). Na maior parte dos casos, as células guardas são circundadas por células epidérmicas especializadas e diferenciadas chamadas de *células subsidiárias*. O poro estomático, juntamente com as células guardas e células subsidiárias, é conhecido como *complexo estomático*. As células guardas funcionam como válvulas hidráulicas. As variações no seu volume são responsáveis pelo controle do grau de abertura dos ostíolos. O grau de abertura, por sua vez, influencia decisivamente a difusão do CO₂ para o interior dos espaços aéreos foliares e a perda de água, na forma de vapor, para a atmosfera (fenômeno da transpiração). Uma perda de água por transpiração maior do que a capacidade de absorção pelas raízes gera um processo de desidratação (estresse hídrico), que normalmente é controlado pela imediata redução do grau de abertura dos estômatos.

A arquitetura e o ângulo de inserção das folhas nas plantas superiores são especialmente adequados para otimizar a interceptação de luz. A elevada área superficial por unidade de volume, inerente à sua fina estrutura laminar, também contribui para o aumento da absorção de CO₂. As propriedades ópticas das folhas são extraordinárias: normalmente, as células epidérmicas focalizam a luz; as células paliçádicas canalizam a luz; e os espaços intercelulares do parênquima lacunoso dispersam intensamente a luz, o que aumenta a probabilidade de absorção da luz interceptada. Novas e sofisticadas técnicas experimentais possibilitam, agora, examinar como as variações na anatomia foliar podem aumentar a *performance* fotossintética de uma grande variedade de espécies e em diferentes condições ambientais (Vogelman *et al.*, 1996).

A estrutura, o formato e a distribuição das células nas folhas são características geneticamente determinadas, mas, dentro de limites, podem ocorrer variações que representam ajustes ao meio ambiente. O grau de plasticidade desses ajustes varia de espécie para espécie, compreendendo adaptações de longo e curto prazos. Para exemplificar, podemos destacar que existem diferenças anatômicas, ultra-estruturais e bioquímicas entre as folhas de uma mesma espécie crescidas sob sol pleno e sob intenso sombreamento. Anatomicamente, as folhas crescidas sob iluminação intensa são mais grossas, geralmente têm uma área superficial menor, possuem células paliçádicas mais longas e camadas adicionais de células de parênquima paliçádico.

Os cloroplastos

Os cloroplastos são organelas que se autoduplicam, contendo genoma próprio que codifica parte de suas proteínas específicas. São organelas que se diferenciam a partir de pequenos *proplastídeos* presentes nas células meristemáticas. Nas plantas superiores, a diferenciação de cloroplastos, a partir dos *proplastídeos*, só ocorre em presença de luz. Os genes que controlam o desen-

volvimento e o funcionamento dos cloroplastos localizam-se não só no interior do cloroplasto, mas também no núcleo. Assim, a expressão dos genes dos cloroplastos precisa ser coordenada com a expressão dos genes nucleares em todas as fases do crescimento e desenvolvimento, fazendo parte do processo global de desenvolvimento da planta regulado pela luz.

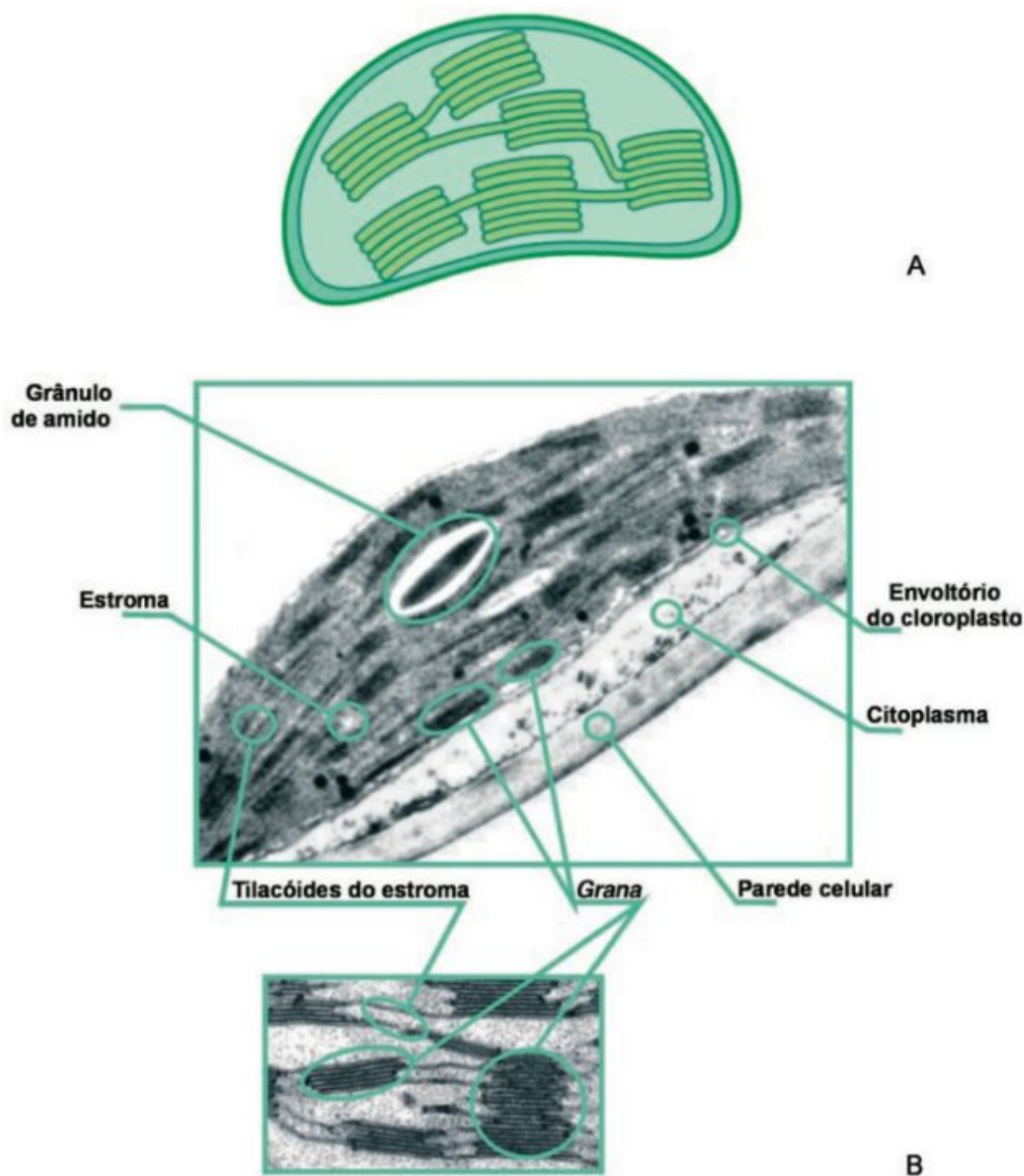
A microscopia eletrônica revelou a estrutura fina dos cloroplastos com um nível máximo de resolução de 0,2 nm (Fig. 5.8a). O *envelope* que define os limites do cloroplasto é constituído por uma dupla membrana, que circunda um complexo sistema interno de membranas, e por uma matriz fluida, que preenche os espaços internos dos cloroplastos, denominada de *estroma*. A membrana mais externa do envelope, em contato com o citoplasma, permite a passagem livre de muitos substratos, enquanto a membrana mais interna, em contato com o estroma, é extremamente seletiva, permitindo o transporte de alguns solutos através de um sistema especial de proteínas denominadas *transportadoras*. De modo geral, o sistema interno de membranas é dividido em duas áreas: a de membranas duplas com formato de vesículas achatadas e empilhadas, que são denominadas *tilacóides dos grana*, e uma outra constituída de membranas duplas simples que fazem múltiplas conexões entre os *grana*, chamadas de *tilacóides do estroma* (Fig. 5.8b). Um conjunto de tilacóides empilhados recebe o nome de *granum* (plural: *grana*). As vesículas dos tilacóides dos *grana* são sacos empilhados que se comunicam através de conexões com outras membranas. Em seu conjunto, o complexo de membranas dos tilacóides parece constituir um sistema único interconectado por um lúmen contínuo, uma característica importante para o transporte de elétrons e para a síntese de ATP. O estroma abriga as enzimas, co-fatores e substratos da etapa bioquímica da fotossíntese e de inúmeras outras vias metabólicas que operam no interior dos cloroplastos.

A intensidade luminosa do ambiente afeta a ultra-estrutura dos cloroplastos. O grau de empilhamento aumenta a quantidade de membranas de tilacóides em um dado volume do cloroplasto. As folhas de plantas mantidas sob sombreamento intenso têm mais tilacóides empilhados, ou seja, um conjunto de *grana* maior e mais desenvolvido do que as folhas crescidas sob sol pleno.

A CONVERSÃO DA LUZ EM ENERGIA QUÍMICA

Luz: a energia que impulsiona a fotossíntese

A energia solar contempla duas necessidades importantes dos seres vivos: energia e informação. A necessidade energética é suprida pela fotossíntese. As plantas, sendo organismos sésseis, desenvolveram a capacidade de monitorar as mudanças ambientais e de ajustar o seu metabolismo e o seu desenvolvimento ao ambiente em contínua modificação. A radiação, principalmente a luz, fornece informações críticas sobre o meio ambiente. Através de diferentes sensores (moléculas especiais denominadas

**FIGURA 5.8**

(A) Esquema da ultra-estrutura de um cloroplasto mostrando a organização do seu sistema de membranas. As membranas internas são denominadas tilacóides, apresentando regiões empilhadas (tilacóides dos *grana*) e não empilhadas (tilacóides do estroma); (B) eletromicrografia de transmissão de cloroplastos evidenciando a sua ultra-estrutura (37.500 \times). (Fotografia gentilmente cedida pela Prof^a Maria Emília M. Estellita.)

pigmentos), as plantas são capazes de perceber a qualidade e quantidade da radiação.

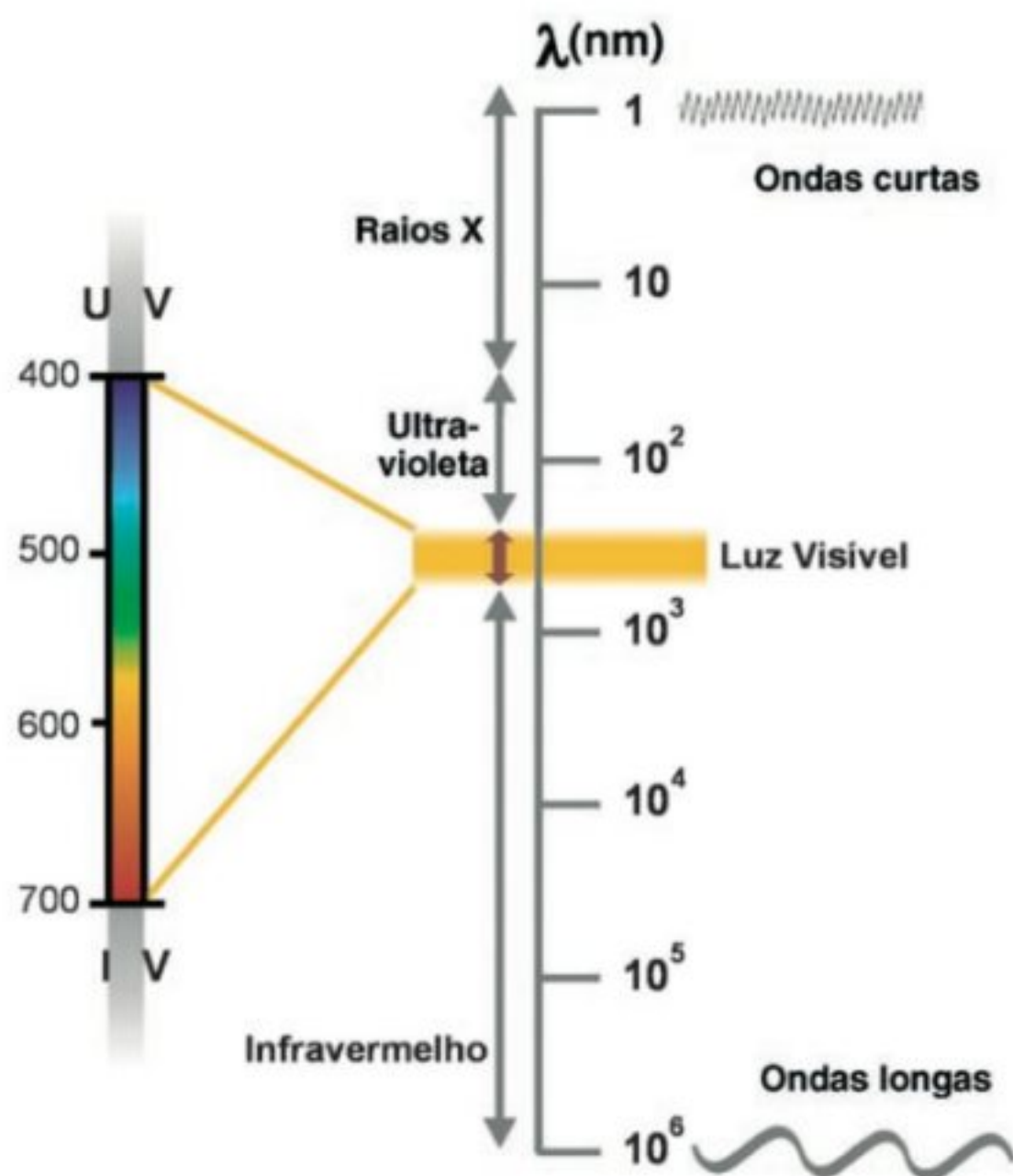
A NATUREZA FÍSICA DA LUZ

O sol emite continuamente para o espaço radiação eletromagnética. A luz corresponde a uma pequena faixa de energia do espectro eletromagnético contínuo da radiação solar, responsável pelo fenômeno fisiológico da visão (Fig. 5.9). A luz compreende, portanto, os comprimentos de onda do espectro eletromagnético que podem sensibilizar os nossos pigmentos visuais. Como toda onda eletromagnética, a luz tem um comportamento duplo, assumindo propriedades ondulatórias, ao se propagar no espaço,

e um comportamento de partículas discretas, ao ser emitida ou absorvida por um corpo.

A luz como um fenômeno ondulatório

Quando se propaga no espaço, a energia radiante tem características ondulatórias, apresentando mudanças repetidas e regulares em suas propriedades elétricas e magnéticas. Cada tipo de radiação pode ser caracterizada pelo *comprimento de onda* – distância entre dois picos sucessivos de uma mesma onda – ou pela *frequência* – número de vezes que a mesma fase ou ciclo passa por um ponto no espaço por segundo (Fig. 5.9). O comprimento de onda é representado pela letra grega lambda (λ). Normalmente, a faixa de comprimentos de onda de interesse biológico é expressa em unidades de nanômetro

**FIGURA 5.9**

O espectro eletromagnético. A radiação visível (luz) representa uma fração muito pequena do espectro eletromagnético emitido pelo sol.

(1 nm = 10^{-9} m). A frequência é representada pela letra grega ni (ν), tendo uma relação inversa com o comprimento de onda, que pode ser representada da seguinte forma:

$$\nu = c/\lambda \quad [6]$$

onde c é a velocidade da luz (3×10^8 m s $^{-1}$), constante para todas as ondas eletromagnéticas que se propagam no *vácuo*.

Num extremo do espectro eletromagnético, encontram-se os raios gama e os raios X, que têm comprimentos de onda muito

curtos (inferiores a 10^{-11} m), e, no outro, as ondas longas, como as de rádio, que são da ordem de 1 a 10^4 cm (Fig. 5.9). Os comprimentos de onda de maior importância para os processos fotobiológicos situam-se em três bandas distintas, intermediárias, denominadas: *ultravioleta* (UV), *visível* (luz) e *infravermelho* (Tabela 5.1).

O físico inglês Isaac Newton (1642–1727) demonstrou que a luz pode ser decomposta num espectro de cores, semelhante ao do arco-íris, ao atravessar um prisma. A porção visível do espectro varia do violeta (380 nm) ao vermelho extremo (740 nm). Além desses limites, a radiação é invisível para os seres humanos, podendo, entretanto, afetar vários processos fisiológicos das plantas, principalmente como sinais ambientais. Isso significa que as plantas são capazes de detectar e transformar em informação bioquímica radiações que não podemos enxergar. Por outro lado, algumas bactérias fotossintetizantes primitivas, anaeróbias, são capazes de captar radiações não-visíveis na banda do infravermelho (740 a 870 nm) e realizar a fotossíntese numa condição que, para nós, é de escuridão.

A luz como uma corrente de partículas

Ao interagir com a matéria (por emissão ou por absorção), a luz se comporta como se a sua energia fosse constituída por pacotes discretos de energia, apresentando propriedades que só puderam ser explicadas a partir da Teoria Quântica enunciada por Max Planck (1900), posteriormente ampliada por Einstein, em 1905. As unidades ou pacotes de energia da luz são denominados *fótons*. A energia carregada por um fóton é chamada de *quantum* (plural = *quanta*).

Planck demonstrou que a energia contida num fóton, ou seja, a energia quântica (E_q), está relacionada com o comprimento de onda e a frequência de acordo com a seguinte equação:

$$E_q = hc/\lambda = h\nu \quad [7]$$

onde h é uma constante de proporcionalidade, chamada constante de Planck. O valor de h é $6,62 \times 10^{-34}$ J s. Tal relação implica que a energia quântica de uma dada radiação é inversamente proporcional ao seu comprimento de onda e diretamente

TABELA 5.1

Principais radiações de interesse biológico e conteúdo de energia de seus fótons. A definição de determinada cor associada a uma banda de comprimento de onda é relativamente arbitrária e dependente do indivíduo (Nobel, 1991)

Cor	Comprimento de onda (nm)	Comprimento de onda representativo (nm)	Energia (kJmol $^{-1}$)
ULTRAVIOLETA	$100 > \lambda < 400$	254	471
VIOLETA	400–425	410	292
AZUL	425–490	460	260
VERDE	490–560	520	230
AMARELO	560–585	570	210
LARANJA	585–640	620	193
VERMELHO	640–740	680	176
INFRAVERMELHO	> 740	1.400	85

proporcional à sua frequência. A equação [7] possibilita o cálculo da energia do fóton de qualquer comprimento de onda (Tabela 5.1). O símbolo $h\nu$ tem sido utilizado para representar o fóton em figuras e esquemas.

Esses conceitos físicos permitem compreender o efeito das radiações sobre os organismos vivos. Comprimentos de onda muito curtos, tais como os contidos, por exemplo, nas bandas UV-C e UV-B, são extremamente prejudiciais aos seres vivos. A energia dos seus fótons é tão elevada que, ao atingirem as moléculas orgânicas das células, arrancam elétrons de sua estrutura, ionizando-as e, conseqüentemente, comprometendo, de modo irreversível, a sua estrutura e função. Os fótons de comprimentos de onda mais longos, na faixa do infravermelho, têm um baixo nível energético. Ao serem absorvidos, alteram tão-somente a energia cinética das moléculas como um todo, o que promove uma elevação de temperatura. Já os fótons na faixa do visível possuem um nível energético suficiente para excitar elétrons entre os orbitais eletrônicos das moléculas que os absorvem, podendo assim promover reações químicas (reações fotoquímicas). Ao ser absorvida por moléculas especiais (*fotorreceptores* ou pigmentos), a energia dos fótons de luz é transformada em energia de excitação eletrônica, que pode, então, ser canalizada para reações bioquímicas.

Em síntese, a radiação UV promove a ionização de moléculas. Dependendo do comprimento de onda, da quantidade de fótons e do tempo de exposição, a radiação UV pode matar, lesar ou promover mutações nos organismos vivos. Radiações na banda do visível são responsáveis pela maior parte dos fenômenos fotobiológicos em plantas e animais. Já os comprimentos de onda na faixa do infravermelho são importantes por aquecerem a superfície da terra. A temperatura influencia profundamente a velocidade dos processos bioquímicos e, conseqüentemente, a velocidade do crescimento e desenvolvimento dos seres vivos.

Luz e pigmentos: absorção e destino da energia de excitação eletrônica

A ação fotoquímica e fotobiológica da luz obedece a dois princípios fundamentais. O primeiro princípio, conhecido como princípio de *Gotthaus-Draper*, afirma que a luz só tem atividade fotoquímica se for absorvida. Assim, todo processo fotobiológico envolve, necessariamente, moléculas especiais denominadas *fotorreceptores* ou pigmentos, responsáveis pela absorção de determinados comprimentos de onda da luz. Os pigmentos podem, portanto, funcionar ou como sensores, ou como moléculas transdutoras de energia, como ocorre na fotossíntese, servindo de ponte entre a energia do fóton e a energia química.

O segundo princípio, denominado *lei da equivalência fotoquímica de Einstein-Stark*, estabelece que **um fóton** pode excitar apenas **um elétron**. A interação fóton-elétron depende da energia do fóton incidente e do nível de energia do orbital ocupado pelo elétron, sendo um evento do tipo **tudo-ou-nada**. Ou seja, se o nível de energia do fóton de determinado comprimento de onda é compatível com o do elétron, ocorre a excitação e, possivel-

mente, uma reação fotoquímica; se não o for, nada ocorre, significando que aquele comprimento de onda não pode ser absorvido e, conseqüentemente, não exerce uma ação biológica através daquele pigmento.

Uma característica generalizada das moléculas de pigmentos é a existência de muitas *ligações conjugadas* (ligações simples e duplas alternadas). Isso acarreta a existência de muitos elétrons deslocados nos orbitais mais externos, em ressonância, denominados *elétrons π* , os quais participam da absorção de luz. As *clorofilas*, principais pigmentos fotossintéticos, possuem muitos elétrons em ressonância no anel de porfirina (elétrons π). Estes últimos podem absorver fótons com diferentes conteúdos de energia, ou seja, podem absorver diferentes comprimentos de onda (Fig. 5.10a). No caso da clorofila, os fótons de luz absorvidos mais eficientemente são os de comprimento de onda nas bandas do azul e do vermelho, não absorvendo quase nada na banda do verde (Nobel, 1991).

O QUE ACONTECE QUANDO OS PIGMENTOS ABSORVEM LUZ?

Imaginemos que moléculas de clorofila mantidas no escuro sejam iluminadas com feixes de luz monocromática de comprimentos de onda na faixa do azul ou do vermelho. Esses fótons de luz impulsionam os elétrons π para orbitais com níveis de energia mais elevados no interior da molécula de clorofila ($\pi \rightarrow \pi^*$). Diz-se que os elétrons π da clorofila foram *excitados* pelos *quanta* da luz azul ou vermelha. A absorção de fótons de luz vermelha remete os elétrons do estado basal (S_0) para o estado excitado S_1 , chamado *primeiro singleto* (Fig. 5.11). Já os fótons de luz azul, dotados de maior energia quântica, impulsionam os elétrons para um orbital eletrônico cujo nível de energia é ainda mais elevado, denominado *segundo singleto* (S_2). Se tivéssemos que definir, em poucas palavras, o que significa absorção de luz, poderíamos dizer que é um processo ultra-rápido de excitação eletrônica ocasionado pelos fótons de luz. Esse fenômeno ocorre numa escala de fentossegundo (10^{-15} s).

Os estados excitados da clorofila têm um tempo de existência ultrabreve, da ordem de 10^{-12} (picossegundos) a 10^{-6} segundos (milissegundos). Nessa breve fração de tempo, os elétrons retornam ao estado basal dissipando a energia absorvida. A energia de excitação eletrônica pode ser dissipada de vários modos, processo esse denominado *de-excitação* eletrônica. A transição $S_2 \rightarrow S_1$ é extremamente rápida ($\approx 10^{-12}$ s), sendo a energia de excitação dissipada na forma de **calor**. Já a dissipação de energia entre os orbitais eletrônicos $S_1 \rightarrow S_0$ ($\approx 10^{-9}$ s) tem duração suficiente para permitir outros tipos de conversão de energia (Nobel, 1991). Além da liberação de energia na forma de calor, essa dissipação de energia pode se dar das seguintes formas:

1. Dissipação de energia por emissão de luz, fenômeno conhecido como *fluorescência*. Em se tratando das clorofilas, o pico de emissão de luz fluorescente situa-se na banda do vermelho, independentemente do comprimento de onda

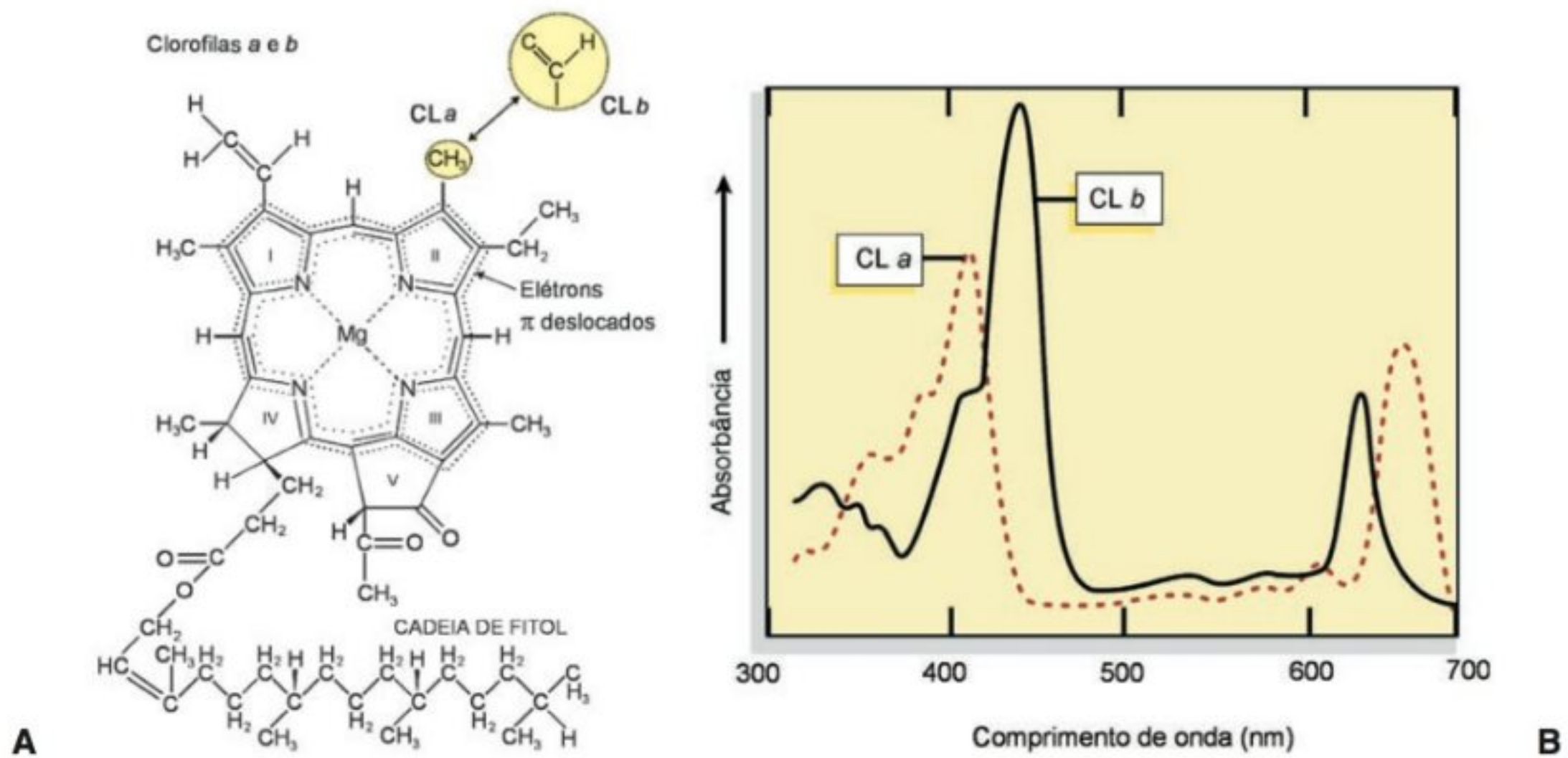


FIGURA 5.10

(A) Estrutura das clorofilas destacando as ligações conjugadas do anel de porfirina contendo uma molécula de Mg. A alternância entre as ligações simples e duplas no anel de porfirina gera muitos elétrons π deslocados, os quais participam da absorção da luz. O anel de porfirina liga-se a uma cadeia de fitol, apolar, responsável pelo ancoramento da molécula de clorofila aos complexos protéicos embebidos na matriz lipídica das membranas dos tilacóides dos cloroplastos; (B) espectro de absorção das clorofilas *a* e *b*.

que tenha excitado as moléculas de clorofila. Os processos de absorção de luz e emissão de fluorescência ocorrem em nanossegundos (10^{-9} s). Quando os pigmentos fotossintéticos são extraídos das folhas e solubilizados em solventes apolares (acetona, éter), a emissão de fluorescência é extremamente elevada, podendo ser visualizada a olho nu. Entretanto, nos cloroplastos intactos, a emissão de fluorescência é mínima, uma vez que os processos 2 e 3 (a seguir) competem de modo eficiente pela energia de excitação eletrônica. No entanto, quando as plantas sofrem diferentes tipos de estresse que afetam a fotossíntese, a emissão de

fluorescência nas folhas tende a aumentar, o que pode ser detectado no laboratório ou no campo através da utilização de um equipamento sensível denominado espectrômetro de fluorescência.

- Transferência da energia de excitação para outras moléculas de carotenóides e clorofila, permitindo uma rápida migração da energia entre os pigmentos densamente empacotados nas membranas dos tilacóides (*complexos de captação de luz ou complexos antena*). A energia é transferida por *ressonância indutiva*, sendo extremamente importante para que a captação de luz ocorra eficientemente.

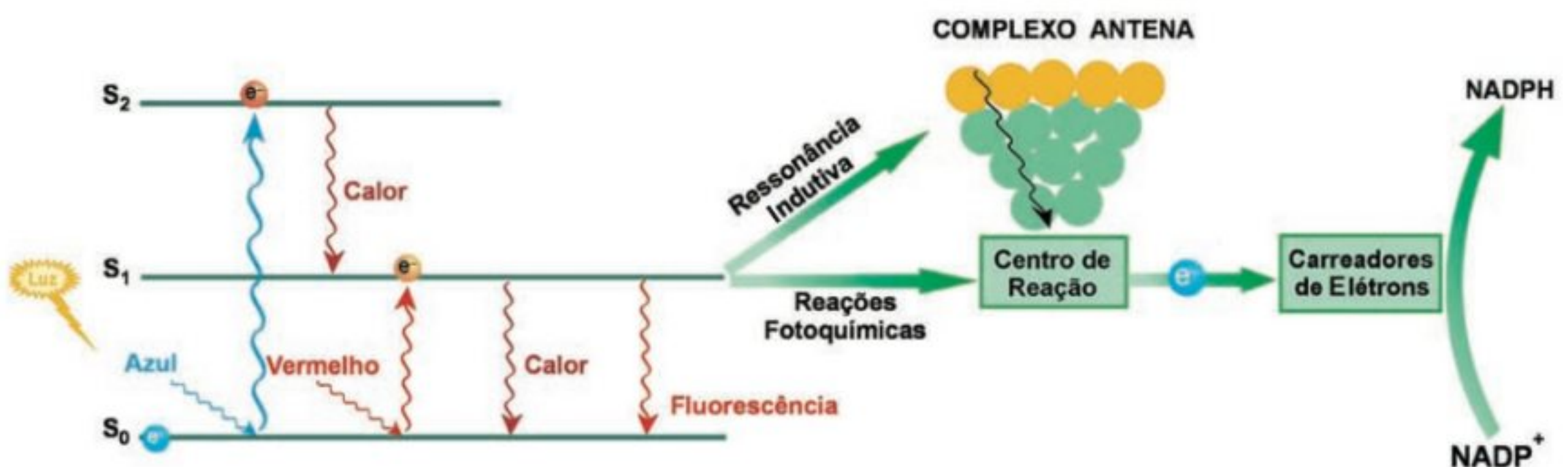


FIGURA 5.11

Modelo esquemático, simplificado, dos níveis de energia da clorofila excitada pela absorção de luz monocromática e o destino da energia de excitação eletrônica. A energia de excitação eletrônica pode ser dissipada de 4 formas: calor, emissão de luz (fluorescência), transferência de energia de excitação elétron-elétron (ressonância indutiva) nos complexos antena e reações redox nas membranas dos tilacóides, gerando ATP e poder redutor (NADPH e ferredoxina reduzida).

Nesse processo, a energia de excitação do elétron de uma molécula é transferida para o elétron da molécula vizinha, e assim sucessivamente. Os *complexos antena* (CA) ou *complexos de captação de luz* (CCL; do inglês *light harvesting complex* – LHC) são estruturas supramoleculares, associadas às membranas dos tilacóides, constituídas por proteínas e pigmentos, tendo a função de captar a luz utilizada no processo fotossintético. Através dos CCL, a energia luminosa é eficientemente absorvida e transformada em energia de excitação eletrônica, a qual é canalizada para os centros de reação. Os CCL contêm moléculas de clorofila *a*, de clorofilas *b* e de carotenóides (Fig. 5.11).

3. Dissipação da energia em reações nas quais o elétron excitado é doado a uma molécula receptora, desencadeando reações de oxirredução. Esse processo ocorre a partir das moléculas de clorofila especiais dos centros de reação (dímeros de clorofila *a*). Diz-se que a clorofila foi *fotoxidada* e que a molécula receptora foi reduzida. Esse processo de separação de cargas, induzido pela luz, constitui o evento fotoquímico primário da fotossíntese (Fig. 5.2). A partir desse ponto, tem início o fluxo fotossintético de elétrons até a redução do NADP⁺ a NADPH (Fig. 5.11).

Apesar de a luz azul ter uma energia quântica maior do que a luz na banda do vermelho, os efeitos de ambos os comprimentos de onda sobre a fotossíntese são *equivalentes*. Parte da energia da luz azul é dissipada na forma de calor ($S_2 \rightarrow S_1$). A energia de excitação eletrônica é canalizada para a fotossíntese a partir do estado excitado correspondente ao primeiro singleto (S_1).

Os pigmentos fotossintéticos

As clorofilas e os *carotenóides* encontram-se densa e rigorosamente organizados nas membranas dos cloroplastos. As moléculas dos pigmentos, nas membranas dos tilacóides, estão estruturadas de modo a otimizar a absorção de luz e a transferência da energia de excitação eletrônica para os centros de reação da fotossíntese (CR).

As moléculas de clorofila são constituídas por um anel de *porfirina* ao qual se liga um hidrocarboneto de 20 carbonos denominado *fitol* (Fig. 5.10a). A clorofila *a* é encontrada em todos os eucariontes fotossintetizantes, fazendo parte dos complexos antena e, principalmente, dos centros de reação. A distribuição de uma segunda clorofila (*b*, *c* ou *d*) pode ter um significado evolutivo e taxonômico, principalmente entre os diferentes tipos de algas. A clorofila *b* é encontrada nas plantas, algas verdes e euglenófitas. A clorofila *b* difere da clorofila *a* apenas pela substituição do grupo metila (-CH₃), ligado ao anel II da porfirina desta última, pelo grupo formila (-CHO; Fig. 5.10a).

Depois das clorofilas, os carotenóides são o segundo grupo de pigmentos mais abundantes do planeta. Os carotenóides têm como estrutura básica esqueletos de carbono com 40 átomos de carbono, ligados simetricamente por ligações duplas alternadas (Fig. 5.12a). Na fotossíntese, os carotenóides podem desempenhar duas funções distintas. Participam da *absorção de luz* nos

complexos de captação de luz atuando como pigmentos acessórios (Fig. 5.11) e desempenham um papel essencial na *fotoproteção* do aparato fotoquímico. As membranas fotossintéticas podem ser facilmente danificadas quando parte da energia absorvida pelas clorofilas não pode ser armazenada no processo fotoquímico. Isso pode acontecer com grande frequência em ambientes intensamente iluminados. As clorofilas excitadas podem reagir com o oxigênio molecular formando espécies ativas de oxigênio (radicais livres) com grande ação destruidora sobre muitos componentes celulares, especialmente os lipídios das membranas.

A fotoproteção envolve a canalização da energia de excitação eletrônica em excesso para fora das clorofilas, bem como a desativação de radicais livres. Carotenóides excitados não têm energia suficiente para formar radicais livres de oxigênio, dissipando a energia de excitação eletrônica como calor. Tal importância é evidenciada pela natureza letal das mutações que afetam a síntese de carotenóides. Mutantes deficientes em carotenóides não sobrevivem em ambientes bem iluminados. O número de moléculas de carotenóides por molécula de clorofila é mais elevado em folhas expostas ao sol do que em folhas mantidas à sombra, especialmente na fração correspondente às xantofilas (Demming-Adams *et al.*, 1996).

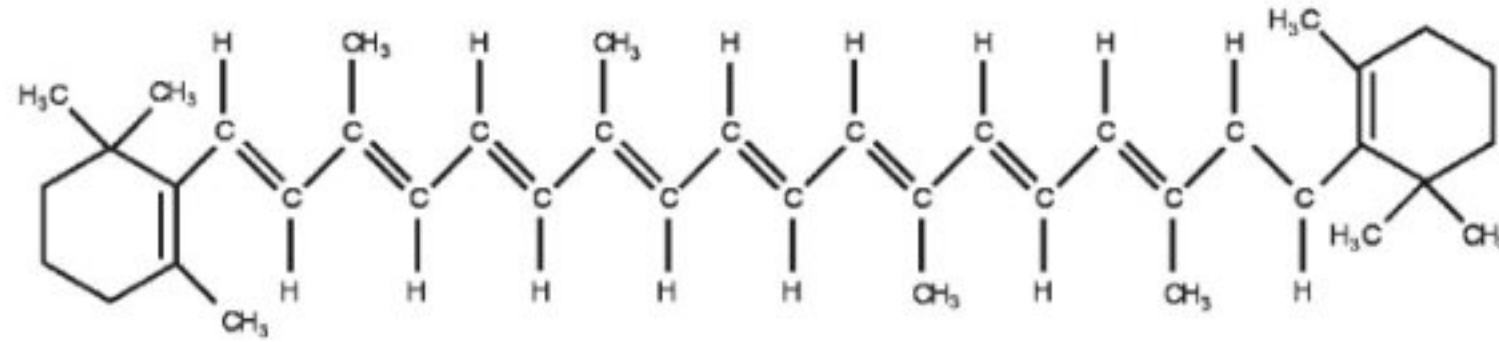
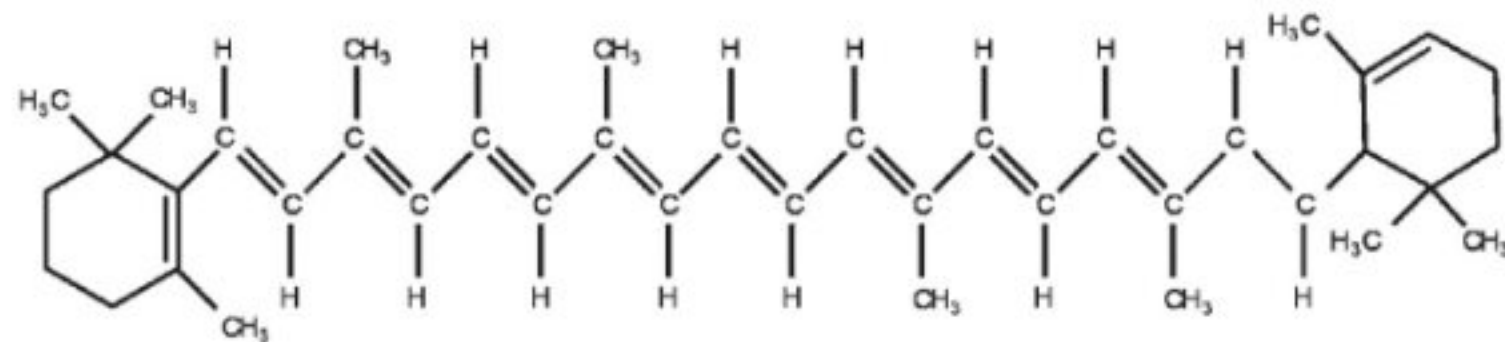
O fluxo fotossintético de elétrons e a fotoxidação da água

Em todos os organismos fotossintetizantes clorofilados, o princípio geral do mecanismo de armazenamento da energia luminosa parece ser o mesmo. Moléculas de clorofila *a*, num ambiente protéico específico de um centro de reação (CR), são excitadas a um estado singleto, principalmente por transferência de energia de excitação eletrônica dos complexos antena. Podem também ser diretamente excitadas por fótons com comprimentos de onda específicos. No estado singleto de excitação, a clorofila do CR é um **redutor muito forte** e transfere o elétron para uma molécula receptora, o que resulta, propriamente, num processo de separação de cargas. A partir da molécula receptora reduzida, tem início um fluxo de elétrons, envolvendo diversos carreadores. Em última instância, esses elétrons participam da redução do NADP⁺ a NADPH. O estado oxidado da clorofila *a* do CR promove a fotoxidação da água e a liberação de O₂. Acoplado ao fluxo de elétrons dos cloroplastos, o ATP é formado através do processo conhecido como *fotofosforilação*.

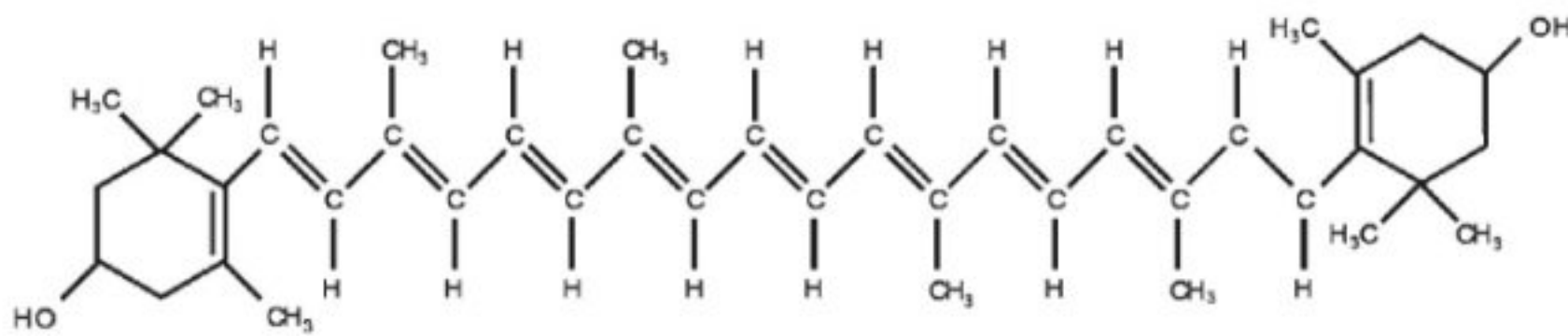
Nas plantas, algas e cianobactérias, o processo de armazenamento fotossintético de energia se dá com a participação de quatro complexos protéicos diferentes, que atuam de modo integrado. Esses complexos protéicos encontram-se embebidos nas membranas dos tilacóides. Os complexos supramoleculares que participam da fotossíntese são o *fotossistema I* (FSI), o *fotossistema II* (FSII), o *complexo citocromo b₆f* (Cit bf) e o *complexo ATP sintase*. A interligação entre os complexos fotossintéticos envolvidos no fluxo de elétrons é mediada por *carreadores móveis* que circulam no interior da matriz lipídica como a *plastoquinona* (PQ); no interior dos tilacóides, como a *plastocianina* (PC); ou no estroma,

A

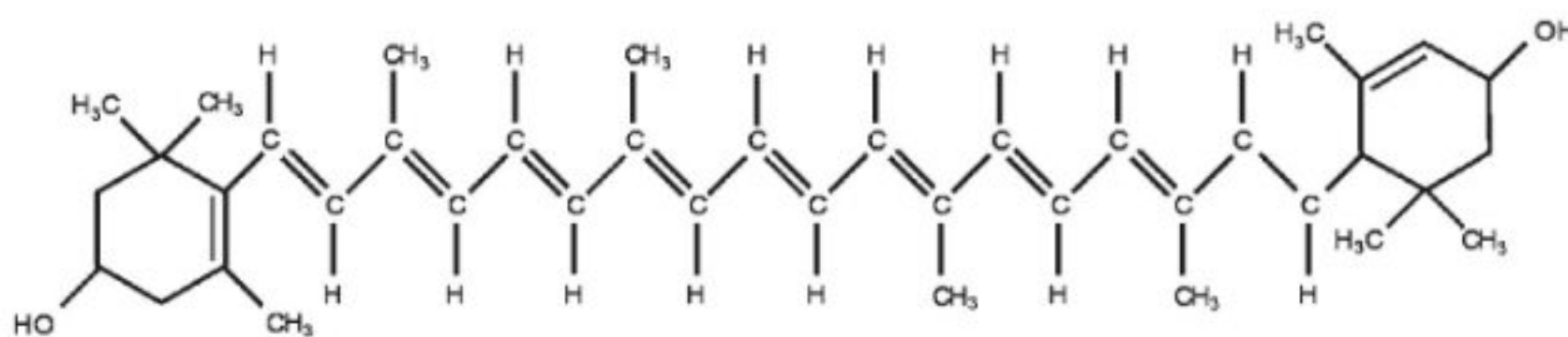
CAROTENOS

 β -Caroteno α -Caroteno

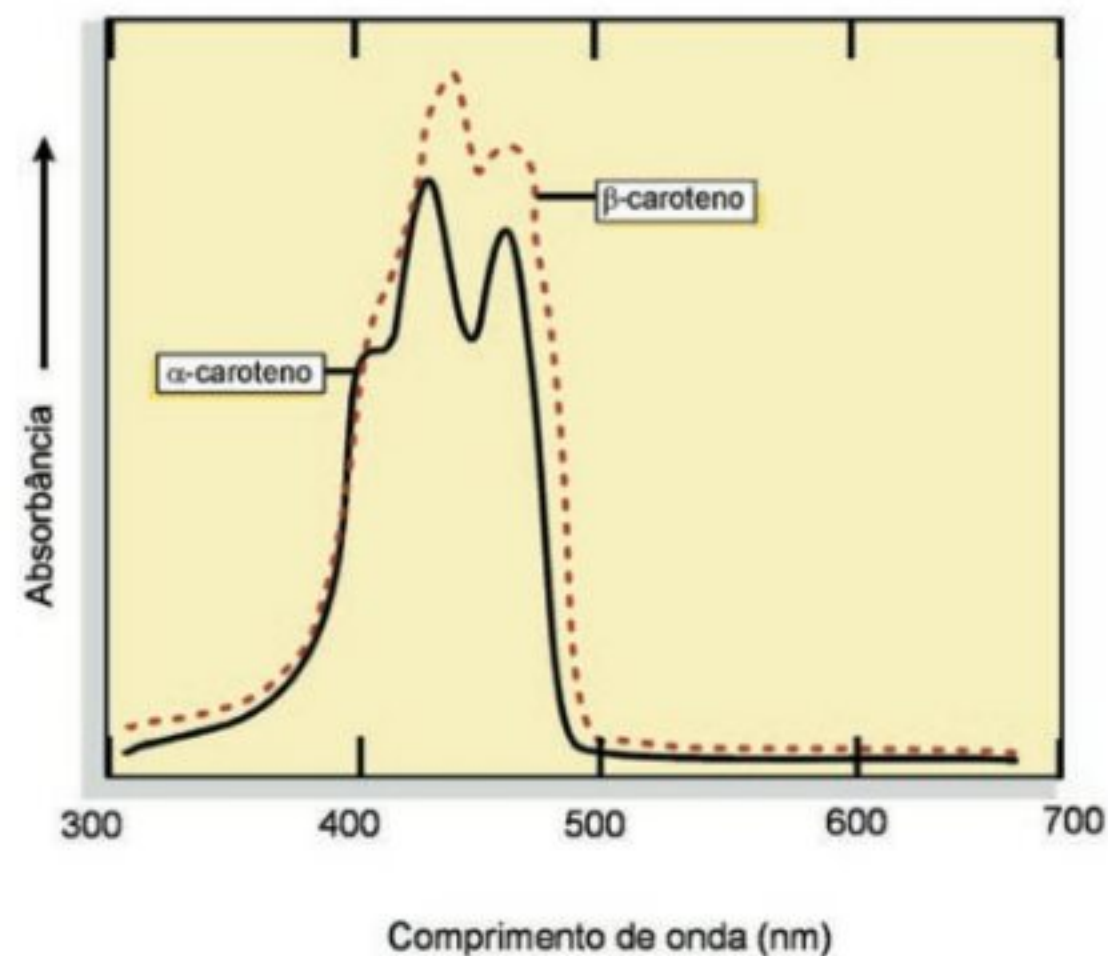
XANTOFILAS



Zeaxantina



Luteína

B**FIGURA 5.12**

(A) Estrutura de alguns carotenóides. As xantofilas contêm grupos hidroxila ligados à cadeia carbônica constituída de 40 carbonos. (B) Espectro de absorção de dois carotenos (α e β).

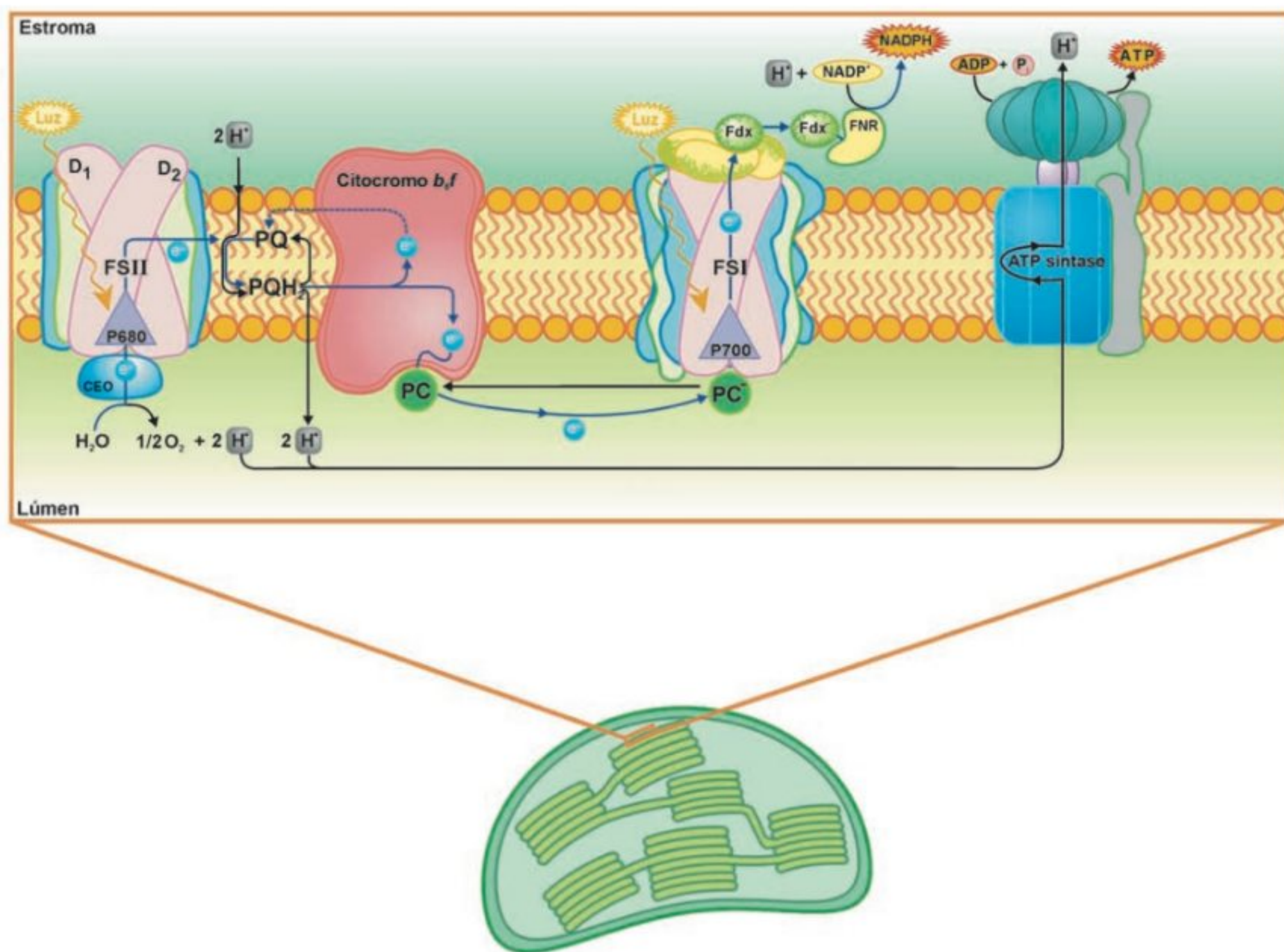
**FIGURA 5.13**

Diagrama dos complexos protéicos, estruturados nas membranas dos tilacóides, responsáveis pelo transporte de elétrons e conservação da energia dos fótons em ATP e NADPH. A energia dos fótons é transformada em fluxo de elétrons nesses complexos protéicos e em gradiente de prótons entre estroma e lúmen dos tilacóides. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

como a *ferredoxina* (*Fd*). O fluxo fotossintético de elétrons entre os fotossistemas gera um gradiente de prótons (H^+) através das membranas dos tilacóides. Esse gradiente de H^+ impulsiona a síntese de ATP. Em outras palavras, o gradiente de prótons acopla a ATP sintase ao processo de armazenamento de energia durante o fluxo fotossintético de elétrons (Fig. 5.13).

Considerando o fluxo fotossintético de elétrons de um modo global e simplificado, pode-se dizer que a luz faz com que os elétrons fluam da água até o NADPH, gerando simultaneamente uma força próton-motriz que promove a síntese de ATP.

Os fotossistemas I e II são grandes complexos supramoleculares constituídos por múltiplas subunidades de proteínas/pigmentos. Cada um dos fotossistemas tem um *centro de reação* e se liga a um *complexo de captação de luz* (*complexo antena*). O CR do FSII é denominado P680 (pigmento com absorção máxima em 680 nm) e o do FSI é chamado de P700 (pigmento com pico de absorção em 700 nm). Os CR são estruturas complexas que apresentam uma configuração dupla e simétrica.

Os fotossistemas operam de modo *simultâneo* e em *série* durante o processo fotossintético (Fig. 5.14). A conexão entre os dois

fotossistemas é feita pelo complexo citocromo *bf* e por dois carreadores móveis: a plastoquinona (FSII \rightarrow PQ \rightarrow Cit *bf*) e uma proteína que contém cobre, denominada plastocianina (Cit *bf* \rightarrow PC \rightarrow FSI).

Quando o fluxo fotossintético de elétrons é representado em função do potencial redox de cada uma das moléculas que o integra, surge um diagrama que é denominado *esquema Z* (Fig. 5.15). Por muito tempo, a compreensão sobre as reações de transferência de elétrons na fotossíntese esteve baseada no esquema Z, modelo originalmente proposto por Hill & Bendall em 1960.

O FOTOSSISTEMA II

O FSII é constituído por um complexo transmembrana formado por cerca de 22 proteínas. Funcionalmente, o complexo protéico do CR do FSII é muito semelhante ao das bactérias fotossintéticas púrpura anaeróbicas não-sulfurosas, cuja estrutura cristalina foi determinada, em nível atômico de resolução, por cristalografia de raios X. O núcleo do FSII é formado pelas subunidades protéicas D_1 e D_2 que atravessam as membranas dos tilacóides.

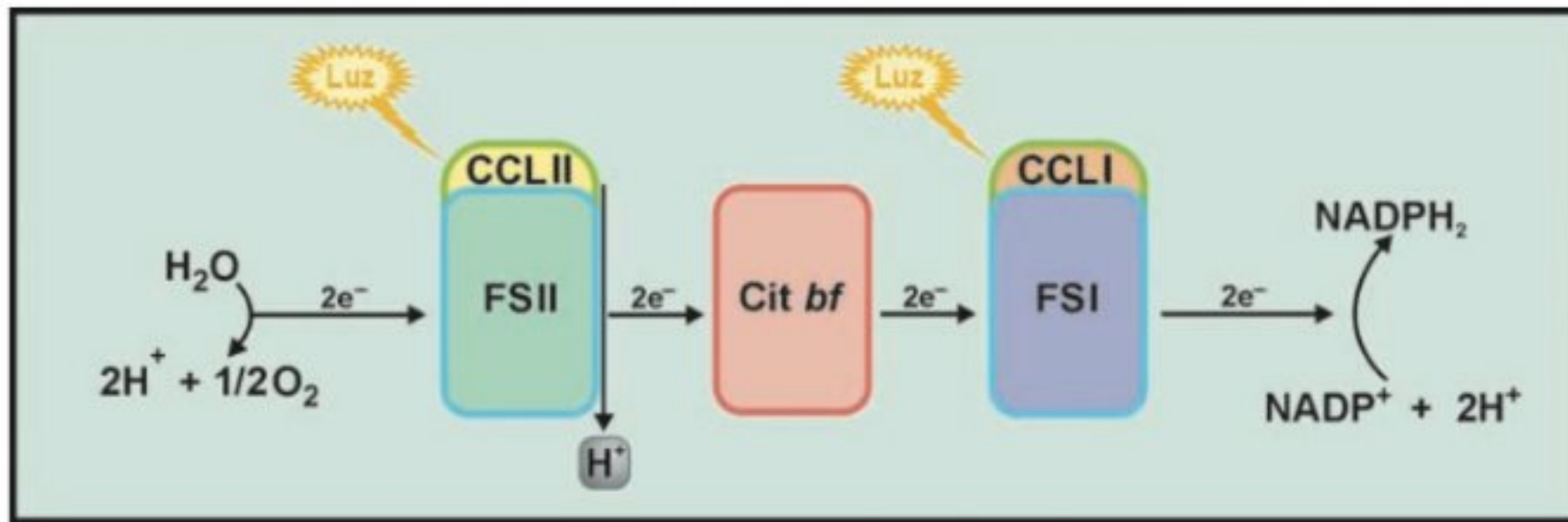


FIGURA 5.14

Representação linear do transporte de elétrons através dos complexos fotossintéticos supramoleculares nas membranas dos tilacóides. (Hopkins, 1998, modificado.)

Os polipeptídios D_1 e D_2 contêm o CR P680 (dímero de clorofila a), a molécula receptora primária de elétrons (feofitina) e sítios de ligação para a ancoragem de moléculas carregadoras de elétrons móveis denominadas plastoquinonas (Q_A e Q_B ; Fig. 5.16). O FSII interage diretamente com o complexo protéico que catalisa a fotoxidação da água, o complexo de evolução de O_2 (Pakrasi, 1995).

O FSII promove a transferência de elétrons, induzida pela luz, da água para a plastoquinona. Havendo excitação eletrônica, os elétrons do CR do FSII são ejetados a partir de dímeros de clorofila a (P680) e recebidos pela feofitina (molécula receptora primária), que, imediatamente, os transfere para a plastoquinona. Esse receptor de elétrons secundário assemelha-se à ubiquinona, um componente da cadeia de transporte de elétrons das mitocôndrias. A plastoquinona varia intercaladamente de uma forma oxidada (PQ) a uma forma reduzida (PQH_2 , plastoquinol). PQ

liga-se aos sítios Q_A e Q_B do FSII e, ao receber elétrons, forma PQH_2 (Fig. 5.17). A forma reduzida da plastoquinona é então liberada dentro do pool da membrana (conjunto numeroso de moléculas de plastoquinona). Na seqüência, PQH_2 transfere elétrons ao complexo citocromo b_6f , enquanto os prótons (H^+) são lançados para o interior do lúmen dos tilacóides, contribuindo para a geração do gradiente transmembrana entre o lúmen e o estroma dos cloroplastos. PQ volta a ocupar os sítios Q_A e Q_B , dando continuidade ao fluxo local de elétrons entre a feofitina reduzida e o complexo citocromo oxidado pelo CR do FSI (P700⁺; Fig. 5.13).

A FOTOXIDAÇÃO DA ÁGUA

A excitação do CR do FSII (P680*) gera um oxidante forte (P680⁺), que retorna ao seu estado de equilíbrio (neutralidade)

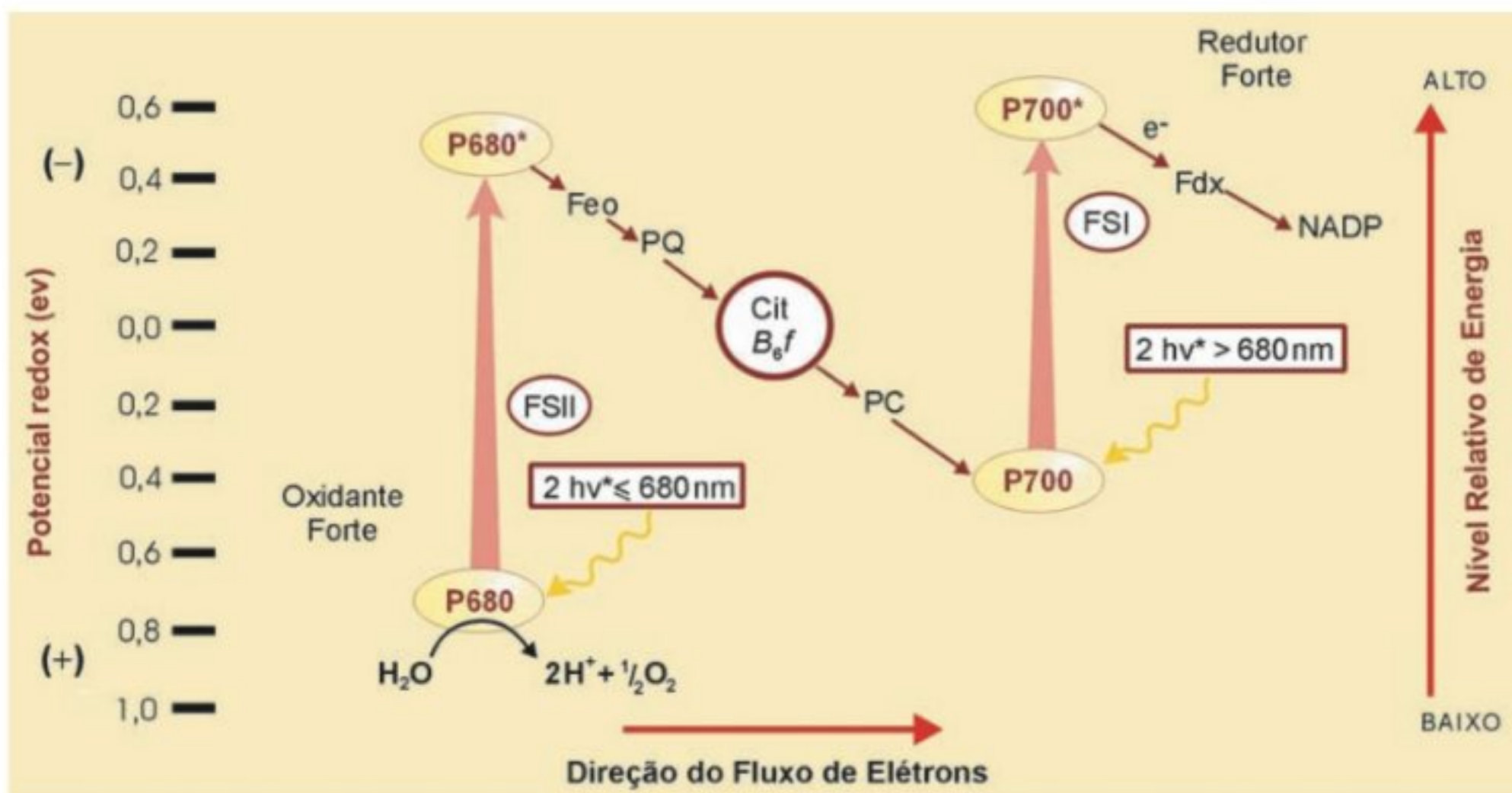


FIGURA 5.15

O tradicional esquema Z representando o fluxo fotossintético de elétrons. Este diagrama associa os carregadores de elétrons do sistema fotoquímico aos seus respectivos potenciais redox e níveis de energia.

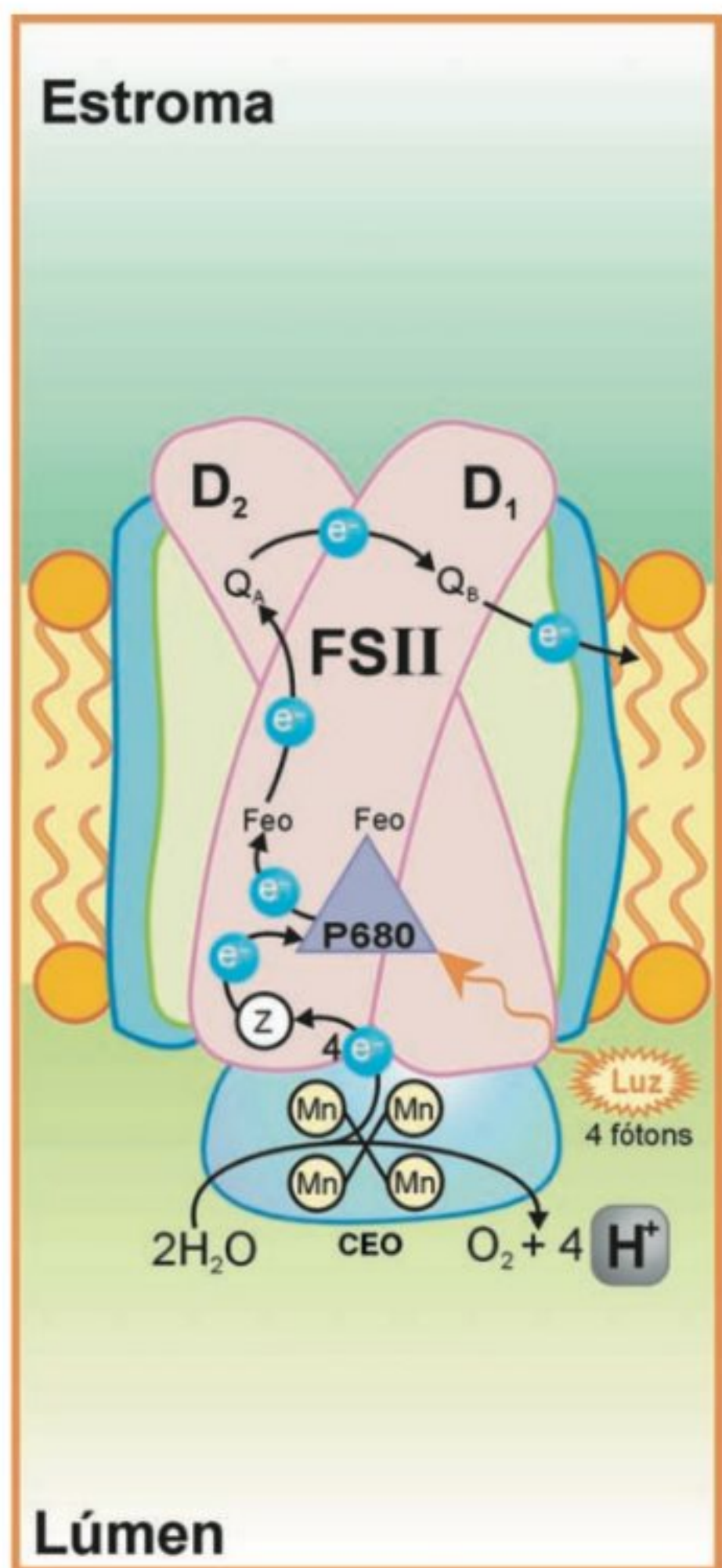
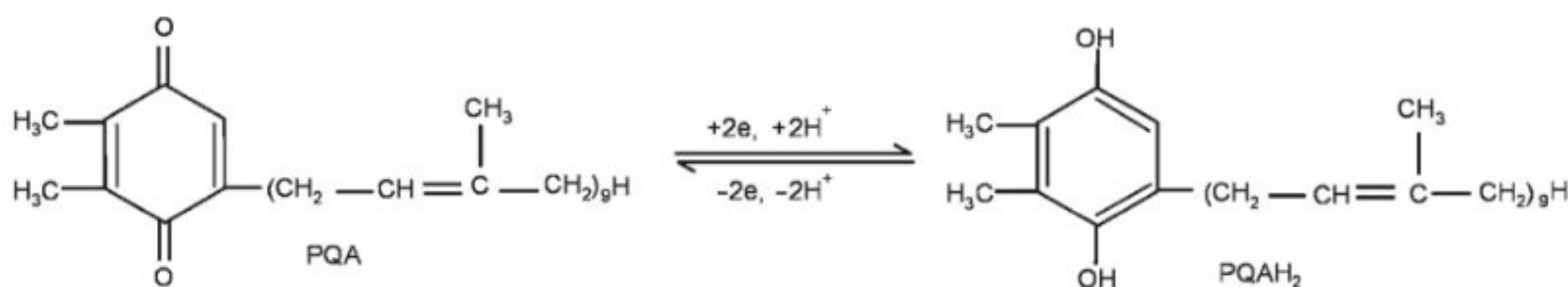
**FIGURA 5.16**

Diagrama esquemático do complexo FSII na membrana dos tilacóides. São mostradas as proteínas integrais das membranas essenciais ao funcionamento do FSII (D_1 e D_2). As setas indicam a direção do fluxo fotossintético dos elétrons impulsionados pela luz. As proteínas CP47 e CP43 são proteínas do complexo antena do FSII associadas à transferência de elétrons para o centro de reação P680. Os elétrons são transferidos de P680 para a feofitina (Feo) e, a seguir, para duas moléculas de plastoquinona (Q_A e Q_B). O complexo protéico denominado complexo de evolução de O_2 (CEO) catalisa a fotólise da água, responsável pela redução do P680 oxidado pela luz ($P680^+$). O CEO abriga um grupo coordenado de moléculas de manganês em sua estrutura. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

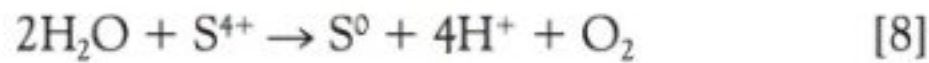
em picossegundos (10^{-12} s), tornando-se apto a ser novamente excitado. Esse evento se dá através da extração de elétrons da água, com a conseqüente formação de O_2 . O processo de fotólise da água é catalisado e intermediado pelo complexo de evolução de oxigênio (CEO). O CEO localiza-se no lado das membranas dos tilacóides voltado para o lúmen (Figs. 5.13 e 5.16). Apenas um CR do FSII e um CEO estão envolvidos na liberação de uma molécula de oxigênio (O_2). Isso envolve a oxidação

de duas moléculas de água com a liberação de quatro prótons e quatro elétrons. Assim, para cada O_2 liberado, o CR P680 precisa ser excitado quatro vezes, ou seja, absorver a energia de quatro fótons. Cada CEO abriga um grupo de quatro íons manganês que atuam como acumuladores de cargas positivas. Cada fóton absorvido remove um elétron do CR P680, o qual é imediatamente repostado por um elétron extraído do aglomerado de íons manganês do CEO. A perda sucessiva de quatro elétrons faz

**FIGURA 5.17**

Estrutura da plastoquinona – forma oxidada e forma reduzida.

com que o centro mangânico saia do estado S^0 para S^{4+} , que é o componente oxidante que reage com a água, restaurando, assim, o estado de oxidação do centro mangânico para a condição S^0 :



Considerando-se que os fotossistemas I e II operam de modo simultâneo e em série, são necessários, **no mínimo, 8 fótons** para cada O_2 liberado durante o processo fotossintético.

Finalmente, cabe destacar que os prótons gerados pela fotoxidação da água acumulam-se no interior do lúmen dos tilacóides, o que contribui para o aumento do *gradiente de prótons* entre o estroma e o lúmen dos tilacóides. Durante o fluxo fotossintético de elétrons, o pH do estroma atinge valores de aproximadamente oito, enquanto o pH do lúmen atinge valores em torno de cinco. Em resumo, tanto a fotoxidação da água como o fluxo de elétrons via plastoquinona contribuem para a geração do gradiente de prótons entre o estroma e o lúmen dos tilacóides durante o fluxo fotossintético de elétrons.

O FOTOSISTEMA I

Até o momento, foram identificadas 13 proteínas no complexo transmembrana do FSI. O CR (P700) apresenta, tipicamente, receptores terminais de elétrons contendo *centros de ferro-enxofre*. Essa característica é importante do ponto de vista evolutivo, porque guarda semelhança com os complexos do CR de bactérias verdes sulfurosas. Cabe aqui destacar que as bactérias fotossintetizantes anaeróbicas possuem um **único** fotossistema, que pode ser similar ao FSII ou ao FSI. Os estudos desses organismos primitivos têm fornecido informações fundamentais para a compreensão da evolução, da estrutura e do funcionamento do processo fotoquímico nos demais organismos fotossintetizantes (Pakrasi, 1995).

O coração do FSI é um dímero de proteínas semelhantes, provavelmente oriundas da duplicação de um gene ancestral, denominadas *psaA* e *psaB* (do inglês *photosystem*, clorofila *a*). Da mesma forma que no FSII, ao receber energia de excitação eletrônica das antenas (CCLI ou LHCI) ou absorver fótons diretamente, o CR do FSI (P700*) doa elétrons para uma molécula receptora A_0 (provavelmente, uma molécula de clorofila modificada), formando o par $P700^+/A_0^-$. A molécula reduzida A_0^- é o mais poderoso agente redutor já encontrado em sistemas biológicos (potencial redox $E_0' = -1,1 \text{ V}$). Quase instantaneamente (10^{-12} s), $P700^+$ captura um elétron da plastocianina retornando a $P700$, podendo assim participar de um novo ciclo de excitação. O elétron de A_0^- é transferido para A_1 , uma quinona (vitamina K_1) e daí para F_x , um aglomerado de ferro-enxofre (4Fe-4S). Depois de passarem por uma proteína de ferro-enxofre (*PsaC*), os elétrons são finalmente transferidos para a *ferredoxina*, uma proteína hidrossolúvel que também contém um aglomerado de ferro-enxofre. Essa reação ocorre no lado da membrana do tilacóide voltada para o estroma (Fig. 5.18).

A ferredoxina é uma molécula redutora estável que pode participar de inúmeras reações no interior do estroma dos cloro-

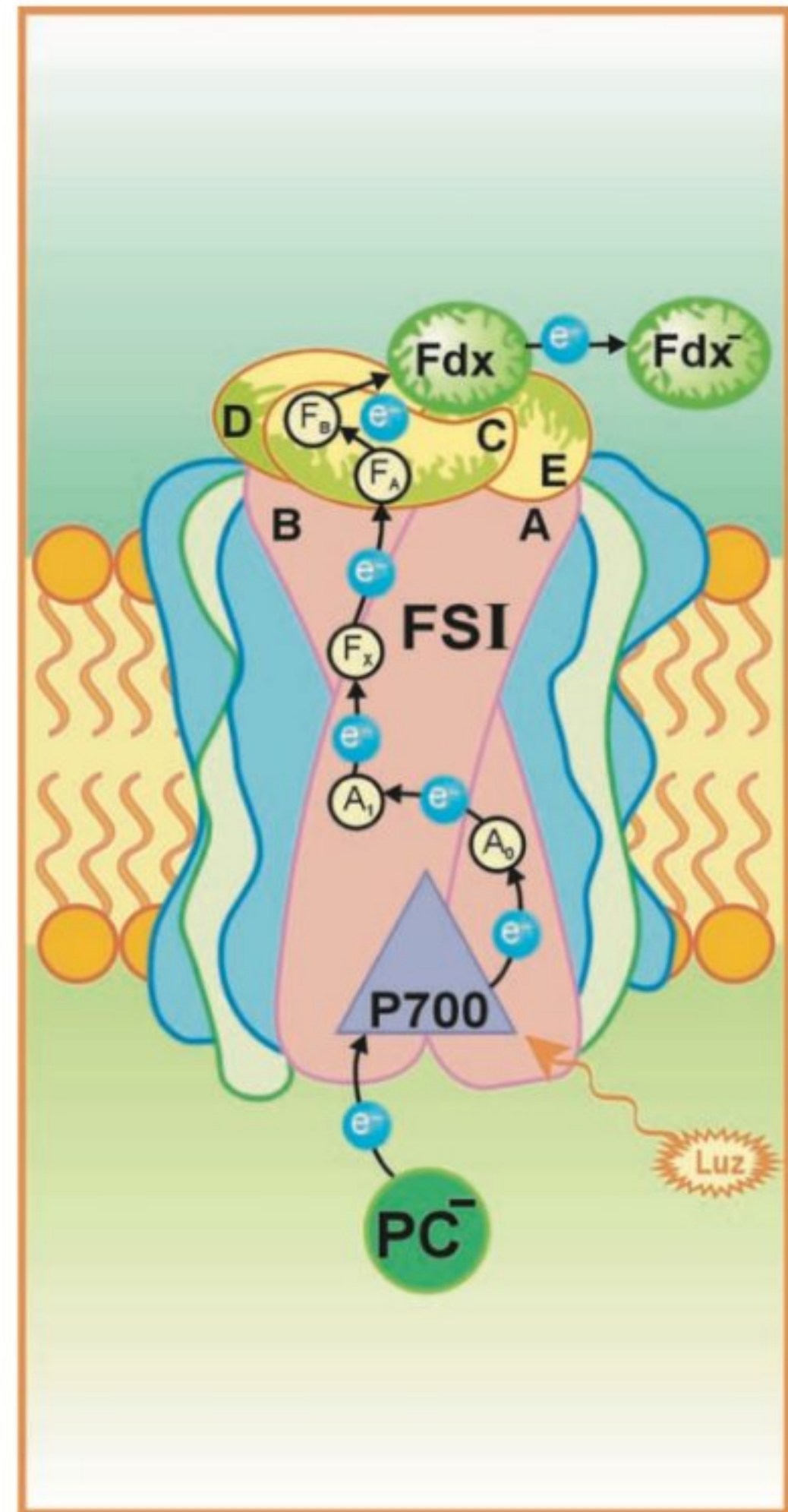
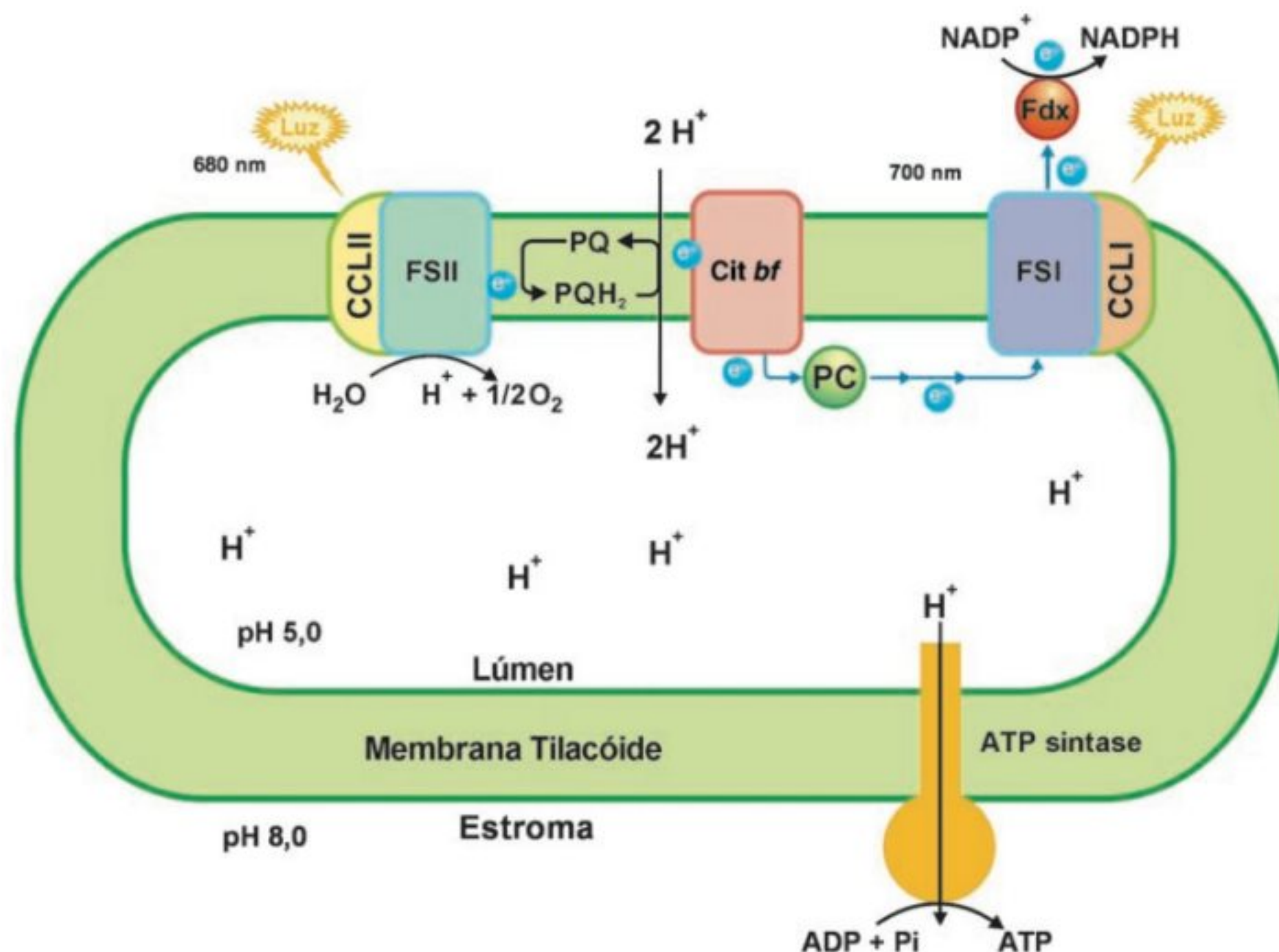


FIGURA 5.18

Modelo esquemático do complexo do FSI na membrana dos tilacóides. As principais proteínas integrais são designadas pelas letras maiúsculas (A e B) e abrigam P700 e os carreadores de elétrons A_0 , A_1 , F_x . A proteína C está associada aos aceptores finais de elétrons F_A e F_B e a dois grupos 4Fe-4S. As setas indicam a direção do fluxo fotoquímico de elétrons impulsionado por fótons de luz. Fdx – ferredoxina; PC – plastocianina. A proteína denominada E está envolvida no fluxo cíclico de elétrons. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

plastos (redução do NO_3^- e de SO_4^{2-} , assimilação de NH_4^+ , dentre outras). Mas, do ponto de vista quantitativo, o principal destino dos seus elétrons é a redução do $NADP^+$ a $NADPH$. Essa reação ocorre no estroma e é catalisada pela enzima *ferredoxina:NADP⁺ oxidorreductase (FNR)*, uma flavoproteína que tem um FAD como grupo prostético. A captação de um próton durante a redução do $NADP^+$ também contribui para o gradiente de prótons através das membranas dos tilacóides. O $NADPH$ formado é utilizado em larga escala na redução do CO_2 durante a etapa bioquímica da fotossíntese.

**FIGURA 5.19**

Modelo esquemático das membranas dos tilacóides mostrando o acoplamento entre o transporte fotossintético de elétrons e a fotofosforilação. A energia armazenada no gradiente de prótons, gerado pelo fluxo fotossintético de elétrons, é utilizada pela ATP sintase para a formação de ATP a partir de ADP e Pi (fosfato inorgânico).

A fotofosforilação

A síntese de ATP nos cloroplastos, promovida pela luz, é chamada de *fotofosforilação*. O mecanismo básico da síntese de ATP nos cloroplastos é muito semelhante ao das mitocôndrias, sendo impulsionado pela força próton-motriz gerada durante o fluxo fotossintético de elétrons. Isso significa que a *hipótese quimiosmótica de Mitchell* para a síntese de ATP também se aplica aos cloroplastos.

As membranas celulares são muito pouco permeáveis aos íons H^+ . Os prótons, entretanto, podem fluir de um modo controlado por intermédio do complexo enzimático ATP sintase, que atravessa a matriz lipídica das membranas através da subunidade CF_0 e projeta-se no estroma com a subunidade CF_1 (Fig. 5.19). O fluxo de H^+ através do complexo ATP sintase, a favor do gradiente de H^+ , é responsável pelas mudanças na configuração da subunidade CF_1 necessárias para a síntese de ATP (Buchanan *et al.*, 2000). Substâncias aplicadas aos cloroplastos que aumentam a permeabilidade das membranas ao H^+ (p. ex., detergentes, ionóforos- H^+ , amônia), ao desfazerem o gradiente de pH, podem desacoplar o fluxo de elétrons da síntese de ATP. Isso quer dizer que, nessas circunstâncias, pode haver fluxo fotossintético de elétrons sem a formação de ATP. Por outro lado, em condições experimentais, pode haver síntese de ATP em tilacóides intactos mantidos no escuro desde que se estabeleça artificialmente um gradiente de pH ($\Delta pH \approx 3$) através das membranas dos tilacóides. Ou seja, em condições de laboratório, pode haver fosforilação nos tilacóides,

sem fluxo de elétrons, desde que exista ADP, fosfato inorgânico, co-fatores e um gradiente de H^+ suficiente.

O ATP sintetizado durante processo fotoquímico, além de sustentar a fixação do CO_2 , é utilizado em inúmeras vias metabólicas que existem no interior dos cloroplastos. A título de exemplo, cabe destacar que grande parte da assimilação de NO_3^- , NH_4^+ e da biossíntese de aminoácidos se dá no interior dos cloroplastos, utilizando o poder redutor e o ATP gerados durante a etapa fotoquímica.

FOTOFOSFORILAÇÃO NÃO-CÍCLICA, CÍCLICA E PSEUDOCÍCLICA

Quando a síntese de ATP se encontra acoplada ao fluxo de elétrons através dos dois fotossistemas, ou seja, da água até o NADPH (Fig. 5.13), a fotofosforilação é denominada não-cíclica ou acíclica. Isso porque a síntese de ATP encontra-se associada a um transporte de elétrons não-cíclico. Nesse ponto, é importante lembrar que os dois fotossistemas não são fisicamente ligados no interior das membranas, mas sim segregados em diferentes regiões dos tilacóides (Fig. 5.13). Conforme vimos anteriormente, a interligação entre FSI e FSII é realizada por carreadores de elétrons móveis. Uma consequência importante da distribuição heterogênea dos fotossistemas nas membranas é que o FSI pode transportar elétrons de um modo independente do FSII, num processo

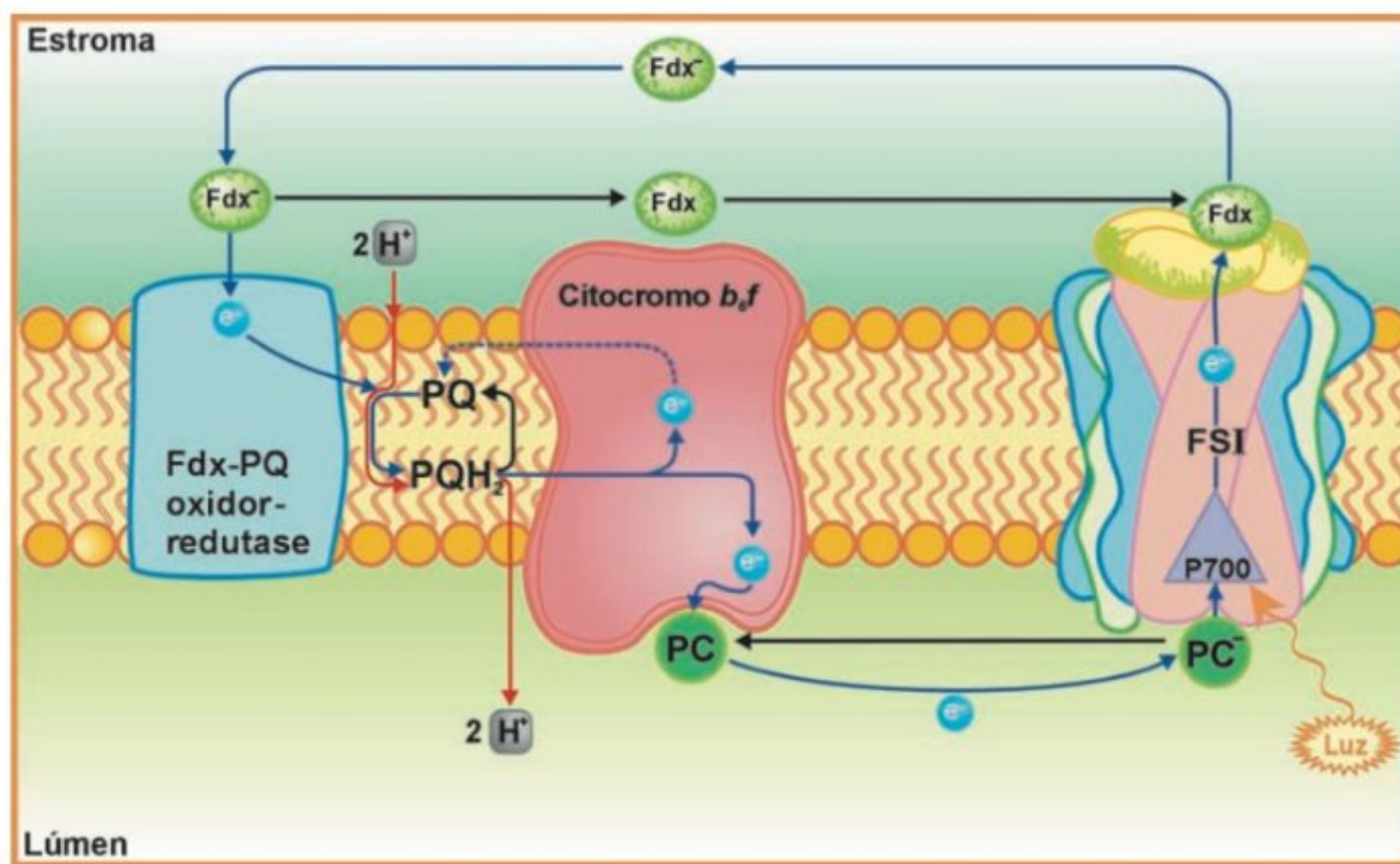


FIGURA 5.20

Modelo de transporte cíclico de elétrons nas membranas dos tilacóides. O transporte cíclico de elétrons envolve o FSI, a enzima ferredoxina-plastoquinona oxidorredutase e o complexo citocromo b_6f . O único produto dessa via é o ATP sintetizado utilizando o gradiente de prótons gerado pela oxidação da plastoquinona reduzida -PQH₂. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

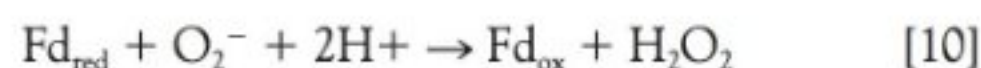
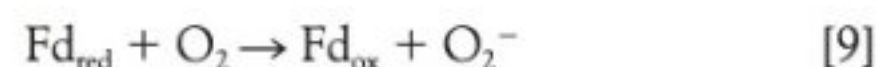
conhecido como *transporte cíclico de elétrons* (Fig. 5.20). A síntese de ATP acoplada a esse fluxo cíclico de elétrons é conhecida como *fotofosforilação cíclica*. Elétrons do FSI, através da ferredoxina, retornam para a plastoquinona via citocromo b_6 (cit b_6), proteína integrante do complexo Cit b_6f . O citocromo b_6 tem um potencial redox de $-0,18$ V e doa elétrons para a plastoquinona, a qual tem potencial em torno de zero. O acoplamento desse fluxo cíclico de elétrons com a síntese de ATP está vinculado à transferência de H⁺, através da plastoquinona, do estroma para o interior do lúmen dos tilacóides.

Em condições de laboratório, iluminando-se cloroplastos com feixes de luz de comprimentos de onda superiores a 680 nm, obtém-se o funcionamento apenas do FSI, através do fluxo cíclico de elétrons. Nessas condições, ocorre tão-somente a fotofosforilação cíclica, sem que haja a fotoxidação da água e liberação de O₂. Os fótons com comprimentos de onda maiores do que 680 nm não são capazes de excitar nem as antenas, nem os CR do FSII (P680).

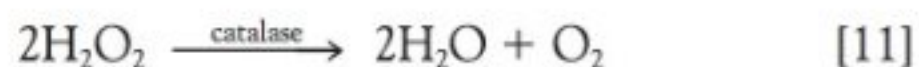
Em condições normais, *in vivo*, a fotofosforilação cíclica e a acíclica coexistem. Evidências experimentais indicam que as duas formas de fotofosforilação podem atuar de modo cooperativo no sentido de manter o equilíbrio do sistema fotoquímico. Quando há excesso de energia radiante, o fluxo cíclico de elétrons é intensificado. Acredita-se que a fotofosforilação cíclica contribua para a dissipação do excesso de energia de excitação eletrônica do sistema fotoquímico em ambientes intensamente iluminados. O fluxo cíclico de elétrons também pode ser intensificado quando há falta de CO₂ no mesófilo foliar e muita radiação solar, situação comumente vivida pelas plantas nos dias quentes e ensolarados.

Nessas condições ambientais, normalmente as plantas experimentam um estresse hídrico, ou seja, perdem mais água do que podem absorver. Para manterem o necessário equilíbrio hídrico, as plantas tendem a diminuir progressivamente a perda de água através da diminuição do grau de abertura dos estômatos. Isso afeta substancialmente a entrada de CO₂ no interior das folhas. Como grande parte do NADPH gerado no processo fotoquímico é consumido na fixação do CO₂, começa a haver um acúmulo de NADPH e de ferredoxina reduzida no estroma e a faltar o receptor final de elétrons, que é o NADP⁺. Nessas circunstâncias, o fluxo cíclico de elétrons é o caminho mais provável dos elétrons excitados do P700. Esse aumento do fluxo cíclico de elétrons promove a síntese de ATP e a dissipação de uma parte da energia de excitação eletrônica do sistema fotoquímico.

Ao mesmo tempo, quando há um fluxo de elétrons muito intenso (elevada taxa de fluência de fótons) ou a disponibilidade de CO₂ é muito baixa, parte dos elétrons da ferredoxina pode ser doada para o oxigênio molecular, que atua, então, como receptor terminal de elétrons. Esse fluxo de elétrons envolve os dois fotossistemas e leva à formação de radicais livres superóxido (O₂⁻). A síntese de ATP que resulta do fluxo de elétrons da água para o O₂ é chamada de *fotofosforilação pseudocíclica*. Esse fenômeno é importante porque, além do radical livre superóxido, há a formação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), numa reação denominada reação de Mehler:



Peróxido de hidrogênio e O_2^- reagem formando outro radical livre muito reativo, o íon hidroxil ($\cdot OH$). A destruição do radical livre superóxido é realizada pela enzima *superóxido dismutase* (SOD). Já a eliminação do peróxido de hidrogênio é efetuada pela enzima *catalase*:



Essas duas enzimas, SOD e catalase, juntamente com os carotenóides, são extremamente importantes como defesas orgânicas contra os radicais livres altamente reativos derivados do oxigênio. Estes últimos, uma vez acumulados, destroem as membranas e as próprias moléculas de clorofila. Diversos estudos têm demonstrado que plantas, algas e microorganismos mutantes, deficientes em SOD ou catalase ou carotenóides, são destruídos quando expostos à radiação solar. Isso confirma a importância dessas moléculas para a defesa das plantas contra a fotoxidação.

Transporte de elétrons e herbicidas

O transporte fotossintético de elétrons pode ser artificialmente bloqueado por compostos que removem elétrons de diferentes

pontos do sistema ou por compostos que são análogos não-funcionais de moléculas constitutivas da cadeia transportadora de elétrons. Muitos herbicidas de amplo espectro, comercialmente disponíveis, atuam de modo letal sobre as plantas por interferirem no fluxo fotossintético de elétrons. Duas categorias químicas de herbicidas bloqueiam a passagem de elétrons do sítio Q_B do FSII para a plastoquinona, interrompendo o fluxo fotossintético de elétrons: são derivados da uréia, como o monouron e o diuron, e derivados da triazina (Fig. 5.21). Essas substâncias têm sido utilizadas em experimentos de laboratório para o estudo do funcionamento dos fotossistemas isoladamente. Isso se torna possível desde que cada fotossistema seja suprido com doadores e receptores artificiais de elétrons dotados de potenciais redox adequados. Outra categoria de herbicidas são os *corantes viologênio bipyridilium* – diquat e paraquat (Fig. 5.21), que atuam interceptando elétrons do lado redutor do FSI. Além de interferirem no fluxo fotossintético de elétrons, os derivados do bipyridilium transferem elétrons diretamente para o oxigênio, catalisando a formação de radicais superóxido. Uma vez absorvidos, os herbicidas bipyridilium matam rapidamente as plantas em presença de luz (Buchanan *et al.*, 2000).

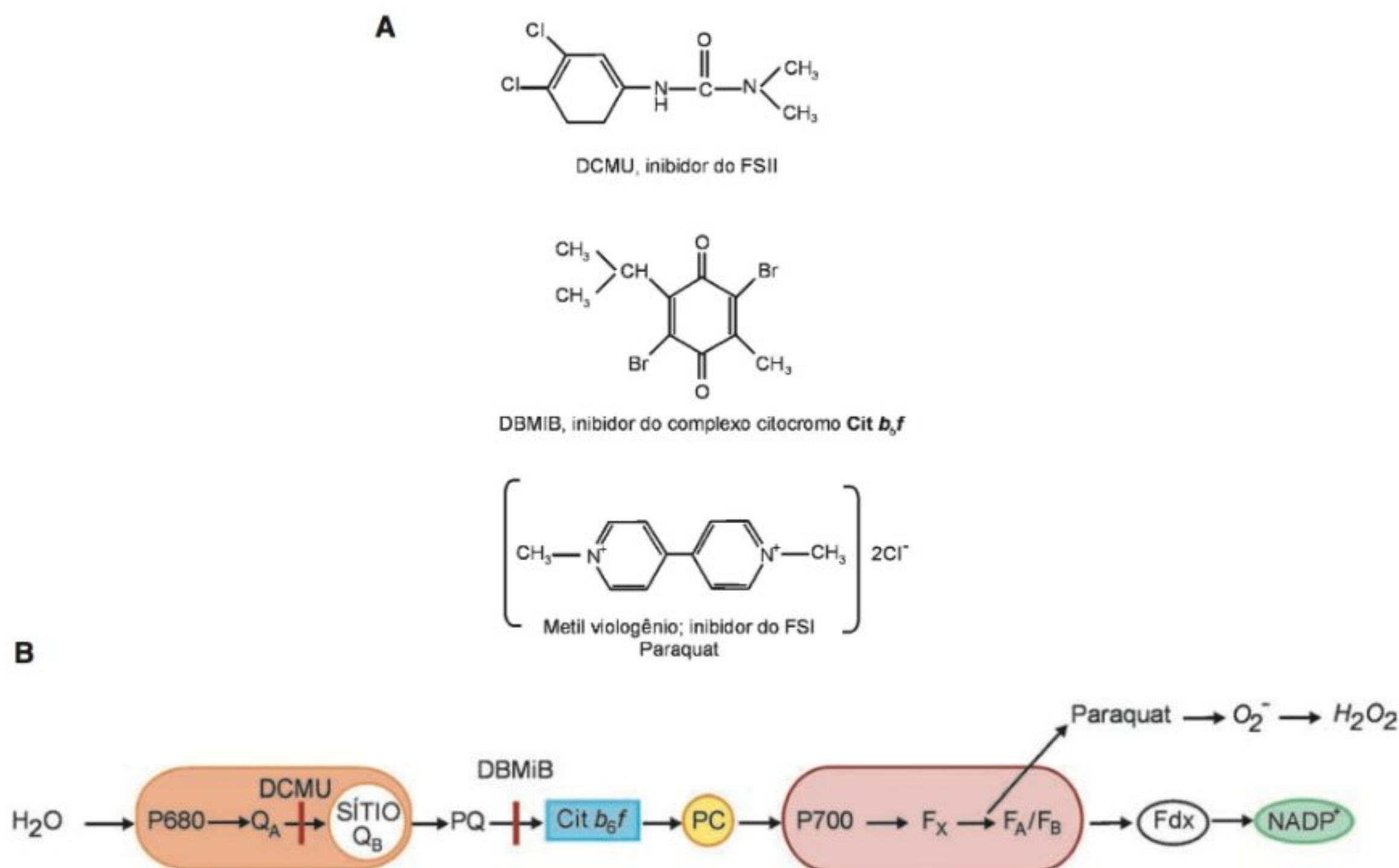


FIGURA 5.21

(A) Estrutura química de três herbicidas que atuam inibindo o fluxo fotossintético de elétrons. O DCMU 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea; DBMIB 2,5-dibromo-3-metil-6-isopropil-*p*-benzoquinona e o paraquat (metil viologênio); (B) sítio da ação dos herbicidas inibidores do transporte fotossintético de elétrons. A redução do paraquat resulta na formação de radicais superóxido e outras espécies reativas de oxigênio que destroem membranas, clorofilas e proteínas. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

Os complexos supramoleculares nas membranas dos tilacóides: estrutura e regulação

De acordo com modelos recentes, as membranas dos tilacóides podem ser divididas em três domínios: as lamelas do estroma, as margens dos *grana* e a parte interna dos *grana* (membranas empilhadas). Esses domínios apresentam composição química e funções diferenciadas (Fig. 5.22). O transporte linear de elétrons (não-cíclico) ocorre no interior dos *grana*, enquanto o transporte cíclico encontra-se restrito às lamelas do estroma (Albertsson, 1995).

De fato, os complexos supramoleculares fotossintéticos apresentam uma distribuição diferenciada e heterogênea nas membranas dos tilacóides (Fig. 5.22). As regiões empilhada e não empilhada das membranas dos tilacóides diferem quanto à composição dos complexos supramoleculares integrantes do processo fotoquímico. O complexo FSI, o CCLI e a ATP sintase localizam-se, quase que exclusivamente, nas regiões *não empilhadas*, em contato com o estroma, enquanto o FSII e o CCLII estão presentes nas regiões empilhadas. O complexo citocromo *bf* tem distribuição uniforme através das membranas dos tilacóides. Durante o fluxo fotoquímico de elétrons, a conexão funcional entre os complexos, especialmente separados no interior das membranas dos tilacóides, é efetuada pelos carreadores de elétrons móveis.

O grau de empilhamento das membranas dos tilacóides no interior dos cloroplastos, bem como a proporção relativa dos

complexos FSI e FSII, pode variar entre espécies e de acordo com as condições de luz do ambiente. Conforme já mencionado (ver Os cloroplastos), o grau de empilhamento das membranas tilacóides aumenta à medida que a intensidade luminosa diminui, e reduz-se à medida que a intensidade luminosa aumenta. Isso promove mudanças não só na proporção relativa dos fotossistemas I e II como também na proporção relativa dos seus respectivos complexos de captação de luz (CCLI e CCLII). O aumento do empilhamento é acompanhado de um aumento quantitativo no número de complexos do FSII e de CCLII.

O CCLII é uma antena maior e, provavelmente, mais importante do que a antena associada ao FSI (CCLI). Hoje sabemos que a maior parte da clorofila total das plantas está associada ao CCLII – cerca de metade da clorofila *a* e quase toda a clorofila *b*. Isso explica um fenômeno já há muito conhecido pelos fisiologistas: o de que as folhas de plantas sombreadas têm um conteúdo relativamente mais elevado de clorofila *b* do que as plantas crescidas ao sol. Um complexo antena ampliado devido à adição de um maior número de CCLII aumenta a capacidade de interceptação de luz e a atividade do FSII sob baixa irradiância. As folhas ao sol, por outro lado, tendo a maior disponibilidade de luz, investem menos recursos na formação de complexos antena (têm menor quantidade de CCLII) e aumentam os níveis de transportadores de elétrons (Cit *bf*, plastoquinona, plastocianina, ferredoxina) e de complexos ATPase por unidade de clorofila.

As adaptações às condições de iluminação do ambiente que envolvem mudanças ultra-estruturais e bioquímicas, como as já descritas aqui, e também na anatomia foliar, podem ser conside-

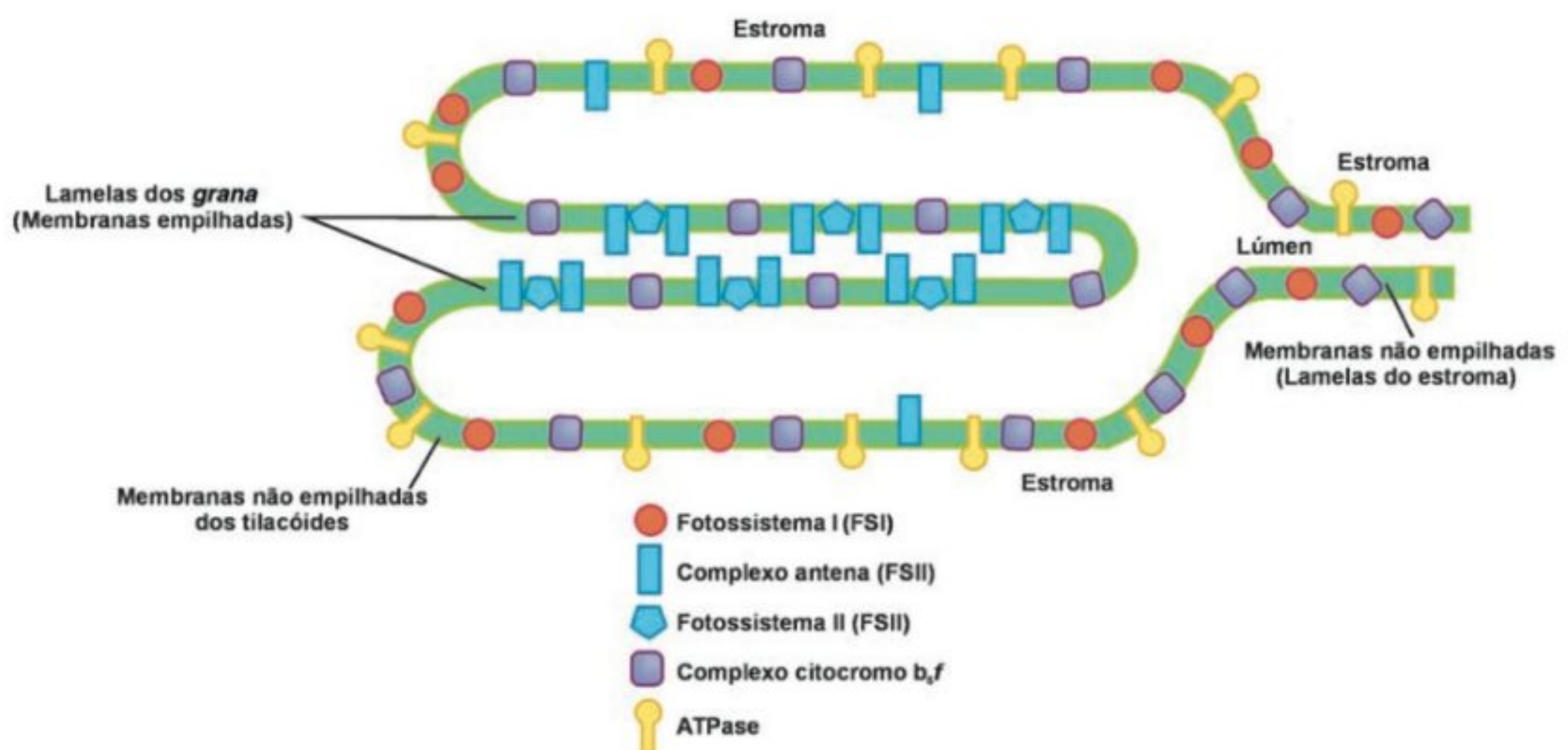


FIGURA 5.22

Distribuição dos complexos supramoleculares do processo fotoquímico nas membranas dos tilacóides. As unidades do FSII estão localizadas nas regiões empilhadas das membranas dos tilacóides, enquanto as unidades do FSI e da ATP sintase estão localizadas nas regiões dos tilacóides em contato com o estroma (regiões não empilhadas dos tilacóides e tilacóides do estroma). O complexo citocromo e os carreadores móveis de elétrons, plastoquinona e plastocianina, encontram-se uniformemente distribuídos ao longo de todo o sistema de membranas. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

radas adaptações de longo prazo. Entretanto, cotidianamente, as plantas estão sujeitas a flutuações extremamente rápidas nas taxas de fluência de fótons e na qualidade da luz. Nebulosidade variável durante um curto espaço de tempo e rápida oscilação da posição de feixes de luz no interior do dossel da comunidade vegetal são exemplos de variações instantâneas na taxa de fluência de fótons. Isso exige mecanismos de adaptação rápidos a essas enormes oscilações na disponibilidade quantitativa e qualitativa de fótons. A eficiência do processo fotossintético, por sua vez, exige uma distribuição equilibrada da energia de excitação entre os fotossistemas I e II; exige um suprimento suficiente e estável de ATP e NADPH para uma ótima redução de CO_2 . Mudanças rápidas no fluxo de fótons poderiam causar desequilíbrios no fluxo fotossintético de elétrons entre os fotossistemas caso não existissem mecanismos de ajuste no aporte de energia de excitação entre os fotossistemas. Assim, quando a energia luminosa é absorvida de modo diferenciado pelos fotossistemas, há uma redistribuição da energia de excitação entre eles. Tal redistribuição parece envolver o movimento físico, ou seja, o deslocamento do CCLII entre os fotossistemas I e II.

O mecanismo de controle do deslocamento do CCLII, por sua vez, parece depender do estado de fosforilação do conjunto de CCLII. Cabe aqui destacar que a fosforilação/desfosforilação reversíveis de proteínas representa um mecanismo de modulação da atividade de enzimas amplamente disseminado no metabolismo vegetal. Dependendo do tipo de enzima, o grau de fosforilação das proteínas pode aumentar ou diminuir a atividade da enzima. No caso específico, o excesso de energia de excitação no FSII em relação ao FSI resulta no acúmulo de plastoquinona reduzida. Acredita-se que o acúmulo de poder redutor junto aos carreadores promova um aumento no estado de fosforilação do CCLII (Fig. 5.23). Essa fosforilação promoveria o deslocamento do CCLII para as regiões do tilacóide enriquecidas com o FSI (regiões não empilhadas dos *grana* e tilacóides do estroma). A fosforilação atuaria, assim, como um mecanismo reversível do tipo liga-desliga: – não fosforilado, o CCLII estaria ligado ao FSII; a fosforilação promoveria o desligamento do CCLII do FSII e sua

ligação ao FSI. O deslocamento modulado do CCLII entre os fotossistemas promoveria uma distribuição equilibrada de energia de excitação entre os fotossistemas, garantindo o equilíbrio do fluxo linear de elétrons. Esse processo de desligamento de uma parte das antenas do FSII (CCLII) dos sítios do FSII também parece ser importante para a redução do aporte de energia de excitação nas membranas dos tilacóides durante períodos de elevada irradiância (Grossman *et al.*, 1995).

METABOLISMO DO CARBONO NA FOTOSSÍNTESE

A fotossíntese ocorre em escala gigantesca em nosso planeta. Para se ter uma idéia da ordem de grandeza do processo fotossintético, estima-se que 2×10^{11} toneladas de matéria orgânica sejam produzidas anualmente (Lawlor, 1987). A produção dessa enorme quantidade de compostos orgânicos é resultante do *metabolismo fotossintético do carbono*, sustentado pelo ATP e NADPH gerados durante a etapa fotoquímica da fotossíntese (Fig. 5.24).

A formação de moléculas orgânicas tem início com a reação de fixação do CO_2 , catalisada por uma enzima denominada *ribulose bisfosfato carboxilase/oxigenase* (*rubisco*). A rubisco é a enzima central para a aquisição de carbono pelos organismos vivos. Ao catalisar a fixação do CO_2 atmosférico, a rubisco desencadeia uma rede de reações bioquímicas que geram os carboidratos, as proteínas e os lipídios que sustentam as plantas e os demais seres vivos, inclusive a nós próprios (Mann, 1999). Necessariamente, quase todo o carbono orgânico existente na biosfera, em algum momento, transitou pelo sítio ativo de uma enzima rubisco.

A rubisco, no entanto, tem a peculiaridade de ser uma enzima bifuncional, ou seja, de apresentar *simultaneamente* duas funções: catalisa tanto a *carboxilação* como a *oxigenação* do seu substrato, a pentose *ribulose-1,5-bisfosfato* (RuBP; Fig. 5.25). Os gases CO_2 e O_2 *competem entre si pelo mesmo sítio ativo da rubisco*, reagindo com o mesmo substrato (RuBP). Enquanto a carboxilação resulta somente na formação de duas moléculas de um ácido orgânico de

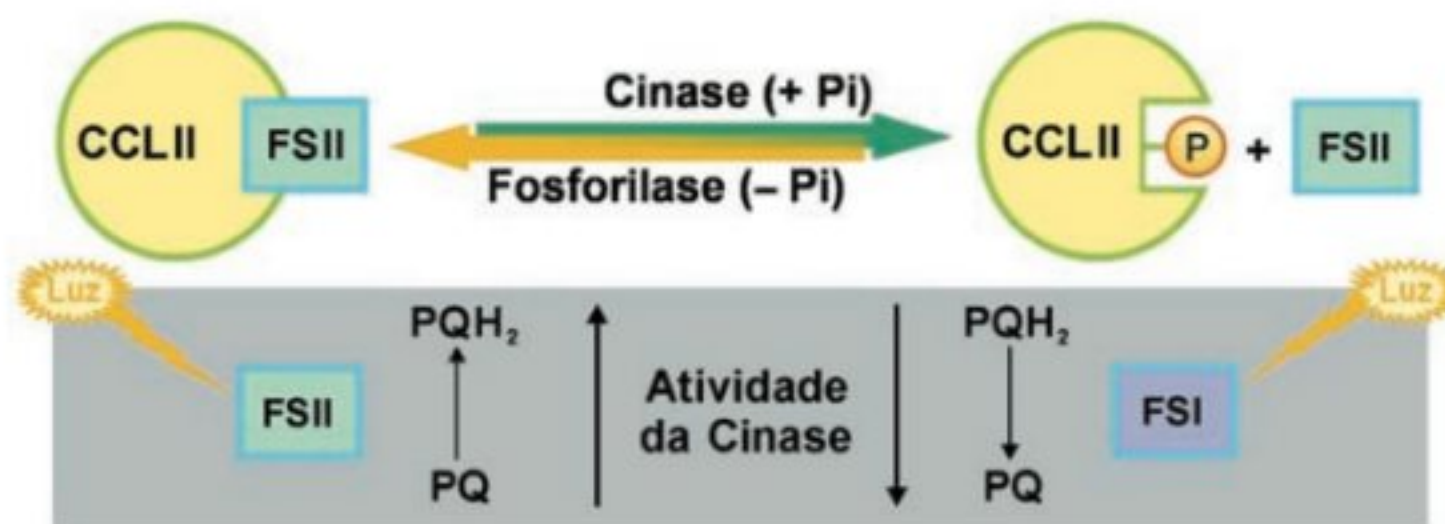


FIGURA 5.23

A fosforilação reversível do complexo de captura de luz do FSII (CCLII) regula o fluxo de elétrons entre os fotossistemas II e I. Excesso de energia de excitação no FSII resulta no acúmulo de plastoquinona reduzida (PQH_2). A elevada concentração de PQH_2 ativa uma proteína cinase que fosforila o CCLII. A redução da concentração de PQH_2 , por sua vez, desativa as proteínas cinases. O CCLII é então desfosforilado pela ação de fosforilases. Ao ser desfosforilado, o CCLII se liga novamente ao FSII, aumentando de novo o fluxo de elétrons para esse fotossistema. (Hopkins, 1998, modificado.)

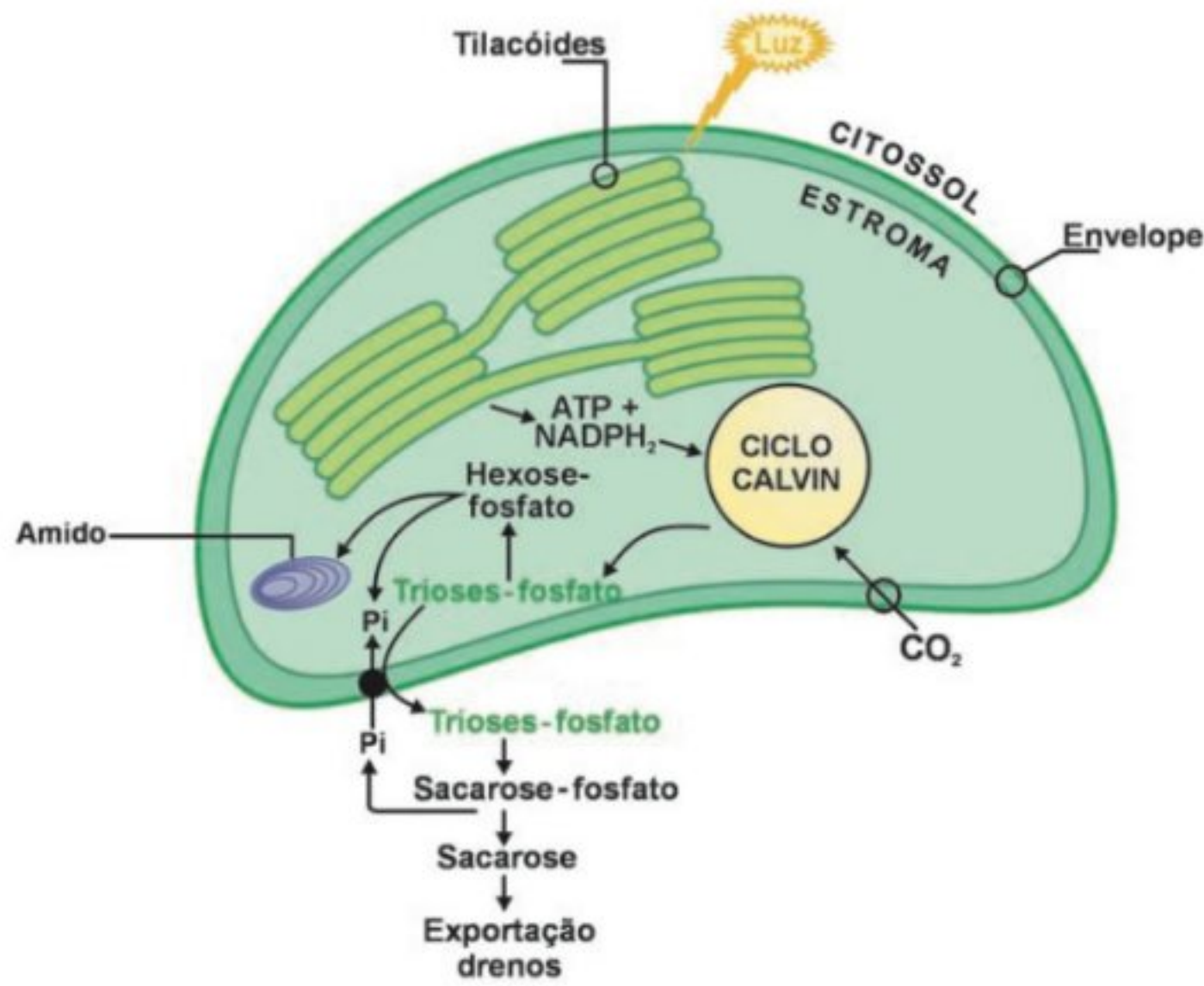


FIGURA 5.24

O ciclo fotossintético redutivo é responsável pela fixação do CO_2 e geração de carboidratos na fotossíntese (ciclo de Calvin ou ciclo C_3). Seu funcionamento é dependente do ATP e NADPH gerados na etapa fotoquímica da fotossíntese. As trioses-fosfato formadas no ciclo C_3 podem ser alocadas para produção de amido no interior dos cloroplastos ou ser transportadas para o citoplasma. Neste último compartimento, ocorre a síntese de sacarose, principal carboidrato exportado pelas células fotossintéticas.

3 carbonos – o 3-fosfoglicerato –, a oxigenação da RuBP conduz à produção de uma molécula de 3-fosfoglicerato e outra de 2-fosfoglicolato (Fig. 5.25).

Partindo do composto resultante da carboxilação, o 3-fosfoglicerato, tem início um ciclo de reações bioquímicas que gera vários carboidratos e que, simultaneamente, regenera a pentose bisfosfato que reage com o CO_2 , a RuBP. Essa via metabólica é conhecida como ciclo de Calvin-Benson ou ciclo fotossintético redutivo C_3 , ou simplesmente ciclo C_3 (Fig. 5.26). O ciclo C_3 é a via metabólica responsável pela geração dos carboidratos precur-

sos de todas as moléculas orgânicas existentes nos organismos fotossintetizantes e heterotróficos. O ciclo C_3 tem sido a base da autotrofia de carbono através de todo o processo evolutivo, sustentando assim a vida na Terra.

O fosfoglicolato, por sua vez, gerado exclusivamente pela função oxigenase da rubisco, não pode ser utilizado no ciclo de Calvin-Benson. O seu processamento é efetuado por uma via metabólica conhecida como via C_2 ou via fotorrespiratória. O metabolismo do 2-fosfoglicolato pela via C_2 se dá com o consumo de O_2 e com a perda de CO_2 já fixado. Dependendo das condições

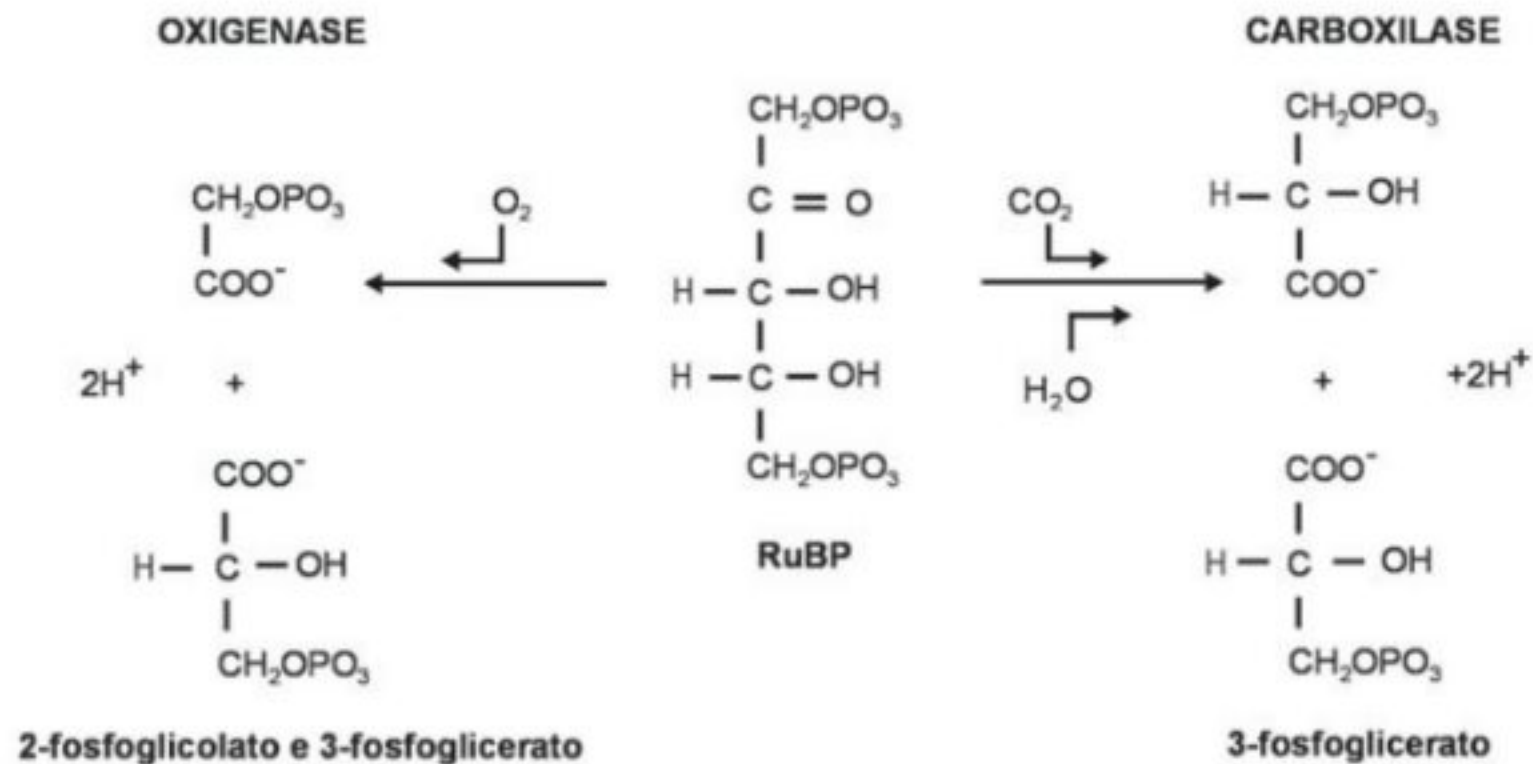


FIGURA 5.25

A carboxilação e a oxigenação da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP), reações catalisadas pela rubisco.

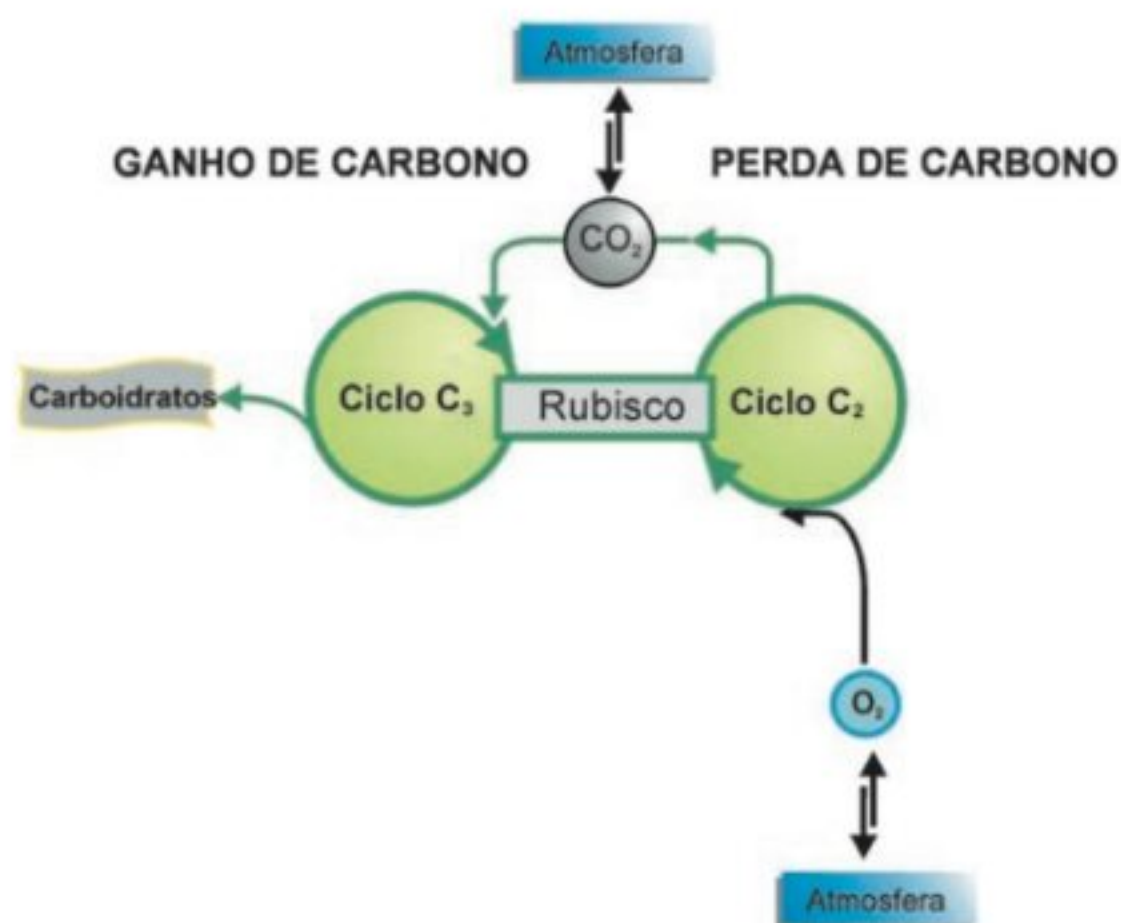


FIGURA 5.26

Esquema relacionando os ciclos fotossintéticos redutivo (C_3) e fotossintético oxidativo (C_2). A rubisco inicia o ciclo C_3 e o ciclo C_2 (fotorrespiração), dependendo do gás atmosférico que reage com a RuBP. (Buchanan *et al.*, 2000, redesenhado.)

ambientais, cerca de 20 a 50% do carbono já fixado pela fotossíntese pode ser perdido na fotorrespiração (Mann, 1999). O ciclo C_3 gera **ganho** de carbono reduzido (carboidratos) a partir da fixação do CO_2 , e o ciclo C_2 promove a **perda** de carbono reduzido a partir da fixação do O_2 . Os dois ciclos operam, portanto, em sentidos opostos. A velocidade relativa desses dois ciclos determina o ganho líquido de carboidratos a cada momento em plantas com a fotossíntese C_3 . Os dois ciclos são sustentados pelo ATP e poder redutor (NADPH e ferredoxina reduzida) produzidos no fluxo fotossintético de elétrons (Fig. 5.26).

A eficiência da assimilação de CO_2 (fotossíntese líquida) depende, portanto, das taxas relativas dos ciclos C_3 e C_2 , em grande parte espécies vegetais. Resumidamente, pode-se dizer que o metabolismo do carbono nos organismos fotossintetizantes é dependente do balanço integrado de dois ciclos que se opõem mutuamente. As taxas relativas entre a via C_3 e a via C_2 , por sua vez, dependem dos fatores que influenciam a concentração relativa entre CO_2 e O_2 no interior do mesófilo foliar e, mais precisamente, no interior do estroma dos cloroplastos, local onde atua a rubisco.

Ao longo do processo evolutivo, os organismos fotossintetizantes desenvolveram várias estratégias para minimizar ou, mesmo, suprimir o funcionamento da via fotorrespiratória (C_2). As estratégias hoje conhecidas fundamentam-se na evolução de mecanismos concentradores de CO_2 junto ao sítio de carboxilação da rubisco. Isso significa que alguns organismos fotossintetizantes são capazes de manipular a concentração relativa de CO_2 e O_2 no interior de suas células e, assim, modular as taxas relativas de carboxilação e oxigenação da rubisco. Em algas adaptadas a condições limitantes de CO_2 , têm sido encontrados mecanismos de concentração do carbono inorgânico no interior das células (Moroney & Somanchi, 1999). Já entre as plantas vasculares, são

conhecidos dois mecanismos de concentração de CO_2 : o *metabolismo C_4* e o *metabolismo ácido das crassuláceas (MAC)*. Ambos os mecanismos concentram CO_2 no sítio ativo da rubisco através de um “bombeamento” bioquímico de CO_2 (Leegood, 1993).

Nesta seção, estudaremos as bases bioquímicas e estruturais dos principais mecanismos fotossintéticos de assimilação do CO_2 . Suas implicações ecofisiológicas mais amplas, bem como o seu impacto sobre a produtividade das plantas, serão tratados na seção seguinte.

A rubisco

A enzima rubisco existe em elevada quantidade nos tecidos fotossintéticos das plantas superiores, sendo provavelmente a proteína mais abundante na superfície do nosso planeta. Nas plantas C_3 , cerca de metade da proteína solúvel das folhas pode corresponder à enzima rubisco. Acredita-se que o maciço investimento que as plantas fazem para produzir essa enorme quantidade de rubisco e, assim, garantir uma fixação de carbono suficiente, seja uma resposta compensatória à baixa eficiência da reação de carboxilação por ela catalisada. Nas plantas superiores, enquanto as taxas das reações enzimáticas são normalmente da ordem de 25.000 reações por segundo, a velocidade de reação da rubisco é de cerca de três reações por segundo (Mann, 1999). Essa ineficiência da rubisco tem implicações nutricionais importantes para os herbívoros e para os próprios vegetais. Em se tratando dos herbívoros, grande parte da proteína consumida na forma de biomassa verde é representada pela rubisco. Para as plantas, produzir tamanha quantidade de rubisco impõe a necessidade de adquirir uma enorme quantidade de nitrogênio a partir do solo.

A rubisco é uma proteína de elevado peso molecular e constituída por dois tipos de subunidades: uma subunidade grande (L) e outra pequena (S). Cada uma dessas subunidades é codificada por genes localizados em compartimentos celulares diferentes. A subunidade maior (L) é sintetizada nos cloroplastos. Já a subunidade menor (S) é sintetizada no citoplasma, a partir de um RNAm transcrito no núcleo celular. A proteína precursora da subunidade S, após ser transportada para o interior dos cloroplastos e sofrer modificações, liga-se à subunidade L, gerando a enzima em sua forma funcional. A rubisco é, portanto, resultado de um processo coordenado de expressão de genes nucleares (*rbcS*) e de genes dos cloroplastos (*rbcL*).

Até o momento, foram identificadas duas formas de rubisco na natureza. A forma mais simples, encontrada em algumas bactérias fotossintetizantes, é constituída apenas de subunidades grandes (L), sendo denominada forma II. Por outro lado, a enzima ativa, presente na maior parte dos organismos fotossintetizantes, é constituída de oito subunidades L e oito subunidades S (L_8S_8), sendo denominada forma I. O sítio ativo da enzima situa-se na subunidade L. Ao se estudar as propriedades cinéticas da rubisco ($K_m(CO_2)$, $K_m(O_2)$, $V_{máx}$) proveniente de diferentes espécies de plantas C_3 , verifica-se a existência de diferenças pequenas, porém significativas (Woodrow & Berry, 1988).

O ciclo C₃ (ciclo de Calvin-Benson)

A elucidação da via metabólica através da qual os vegetais fixam o CO₂ e produzem os carboidratos é um marco histórico no desenvolvimento das ciências biológicas. Foi a primeira via metabólica inteiramente descoberta com o uso do isótopo radioativo do carbono, o ¹⁴C. A partir de meados da década de 40, Calvin, Benson, Bassham e uma equipe de colaboradores utilizaram o ¹⁴CO₂ em experimentos com algas verdes dos gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus*. Associaram ao traçador radioativo uma ferramenta analítica eficaz, a cromatografia bidimensional em papel, uma técnica bioquímica então recentemente desenvolvida. A técnica de cromatografia permite separar e identificar pequenas moléculas orgânicas presentes numa mistura complexa, como aquela derivada de um extrato de células vegetais.

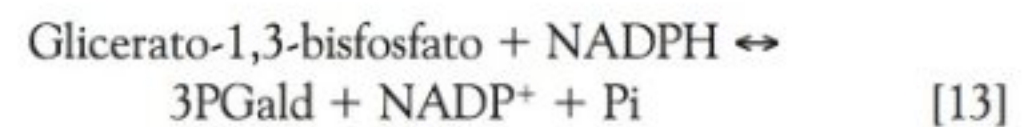
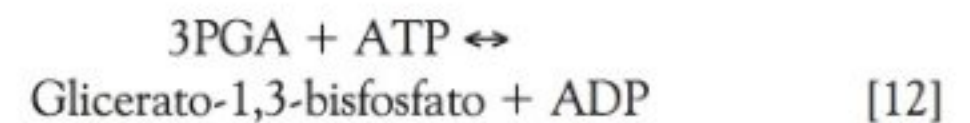
Suspensões uniformes de algas verdes eram expostas a condições constantes de luz e CO₂, de modo que a fotossíntese atingisse um estado estacionário. Por um breve período de tempo, o ¹⁴CO₂ era fornecido às algas com o objetivo de marcar radioativamente os diversos intermediários do ciclo. As análises bioquímicas eram efetuadas em amostras de algas coletadas em álcool fervente, em diferentes momentos, a partir do suprimento do ¹⁴CO₂. Procedia-se, então, à separação cromatográfica e identificação dos compostos orgânicos presentes nos extratos das algas. As regiões do papel de cromatografia marcadas com radioatividade podiam ser detectadas colocando-se o papel do cromatograma em contato com uma folha de filme de raios X, técnica essa conhecida como **auto-radiografia**. Expondo as algas ao ¹⁴CO₂ por intervalos de tempo cada vez mais breves (até 2 segundos), a equipe de Calvin foi capaz de identificar o primeiro produto estável da fotossíntese, um ácido orgânico de três carbonos, o ácido 3-fosfoglicérico. Identificaram também a seqüência dos demais intermediários através do deslocamento da radioatividade entre os diferentes compostos existentes nos auto-radiogramas dos extratos obtidos em vários períodos após o suprimento do ¹⁴CO₂. Depois de mais de uma década de trabalho intenso, quando foram identificados os diferentes compostos orgânicos intermediários e caracterizadas as enzimas envolvidas, Calvin, Benson e sua equipe estabeleceram a rota que conduz à síntese de carboidratos a partir do CO₂. A via metabólica então desvendada envolve 13 reações organizadas de um modo cíclico.

O ciclo redutivo do carbono (ciclo C₃) é o responsável pela assimilação de carbono em todos os organismos, à exceção de algumas espécies de bactérias fotossintetizantes primitivas. As plantas C₃ compreendem 85% das angiospermas, maioria das gimnospermas e pteridófitas, todas as briófitas e algas.

ETAPAS DO CICLO C₃

O ciclo C₃ pode ser dividido em três fases: a **carboxilativa**, a **redu-tiva** e a **regenerativa** (Fig. 5.27). Ocorre no estroma dos cloroplastos, onde estão localizadas as enzimas que o movimentam. As três fases do ciclo podem ser brevemente caracterizadas da seguinte forma:

1. A *fase carboxilativa* compreende a reação catalisada pela rubisco. Cada molécula de CO₂ fixada pela rubisco dá origem a duas moléculas de 3-fosfoglicerato (3PGA), primeiro composto estável do ciclo C₃. O intermediário de 6 carbonos que forma inicialmente é instável. Inicialmente, o CO₂ reage com o átomo de carbono na posição 2 (C-2) da ribulose bisfosfato, formando uma molécula instável, de 6 carbonos, que permanece ligada à enzima. A seguir, essa molécula é hidrolisada, formando duas moléculas estáveis de ácido 3-fosfoglicérico (3PGA) (Fig. 5.28).
2. Na *fase redutiva*, o 3PGA é convertido a gliceraldeído-3-fosfato (3PGald) através de duas reações que utilizam o ATP e o NADPH produzidos na etapa fotoquímica da fotossíntese. O 3PGald é o *primeiro carboidrato* gerado no ciclo C₃. As duas reações seqüenciais, apresentadas a seguir, são catalisadas pelas enzimas *fosfato glicerato quinase* e *NADP:gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase*, respectivamente:



3. A *fase regenerativa* se processa a partir da formação do 3PGald. Esse monossacarídeo é reversivelmente convertido em diidroxiacetona-fosfato (DHAP) através da enzima *triose-fosfato isomerase* (Fig. 5.29). Os dois açúcares fosfato, constituídos de três carbonos, são denominados *trioses-fosfato* (*triose-P*). Uma série de reações enzimáticas interconvertem açúcares-fosfato de três, quatro, cinco, seis e sete átomos de carbono, e *regeneram* a molécula receptora primária do CO₂, a ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP). Oito enzimas diferentes catalisam as 10 reações que integram a etapa regenerativa do ciclo de Calvin-Benson (Fig. 5.30).

CICLO AUTOCATALÍTICO

A fixação ininterrupta de CO₂ durante a fotossíntese requer que a RuBP seja continuamente regenerada. Isso é garantido pela operação *autocatalítica* do ciclo C₃. Ou seja, o ciclo C₃ se auto-sustenta e, quanto maior a velocidade de formação da RuBP, maior a sua capacidade de fixação de CO₂. A velocidade de assimilação de CO₂ depende, assim, da taxa de geração dos carboidratos intermediários que conduzem à formação de moléculas de RuBP. Por exemplo, a fixação de três moléculas de CO₂ produz seis moléculas de triose-P. Cinco moléculas de triose-P (5 × 3C) devem, necessariamente, regenerar três moléculas de RuBP (3 × 5C), enquanto a sexta molécula de triose-P representa o produto líquido do processo. Isso significa que a formação de uma triose exige três voltas no ciclo C₃. A formação de uma hexose exige seis voltas no ciclo, tendo como saldo duas moléculas de triose-P, retornado ao ciclo o equivalente a

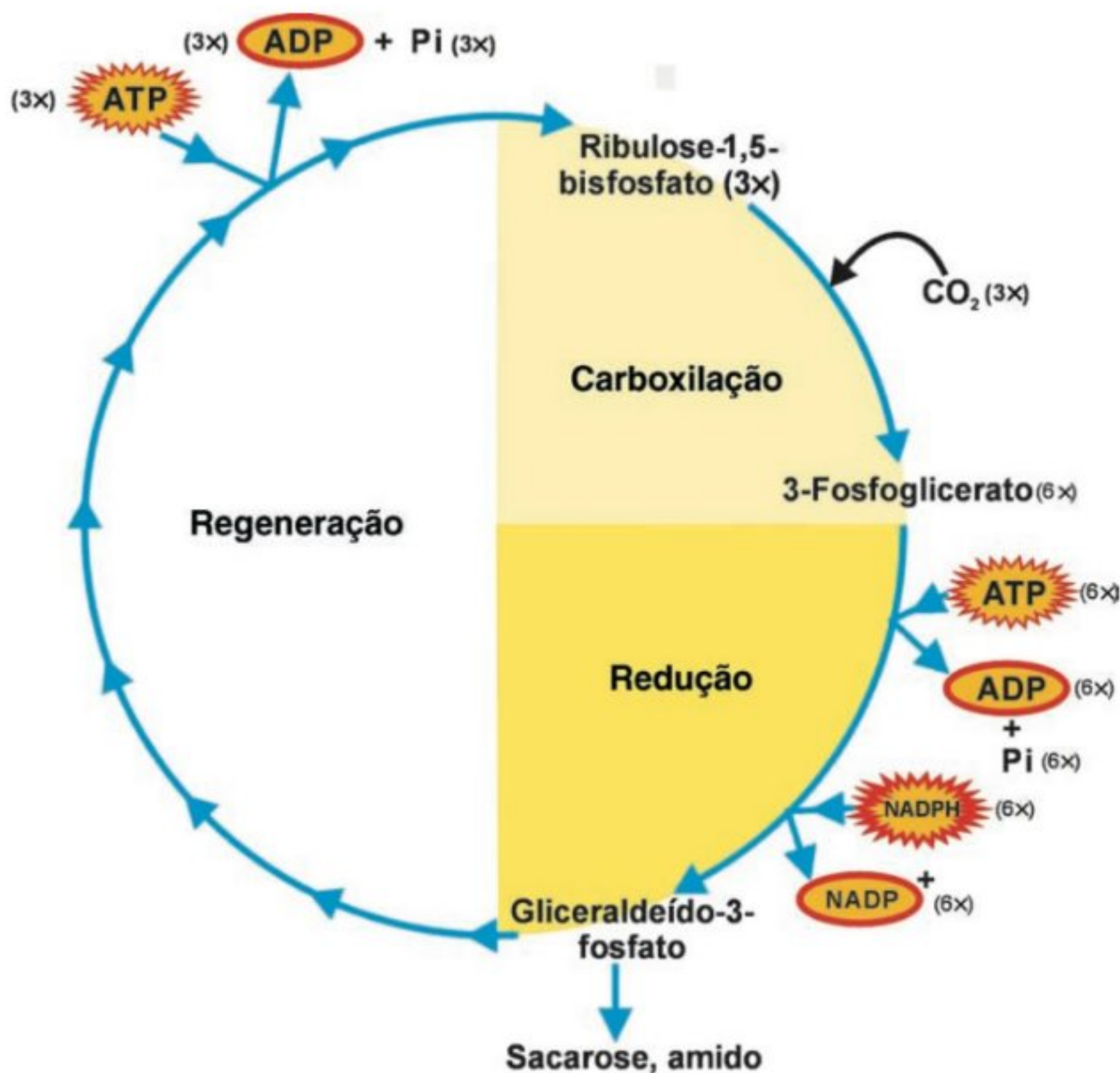


FIGURA 5.27

O ciclo de Calvin pode ser dividido em três etapas: carboxilativa, redutiva e regenerativa.

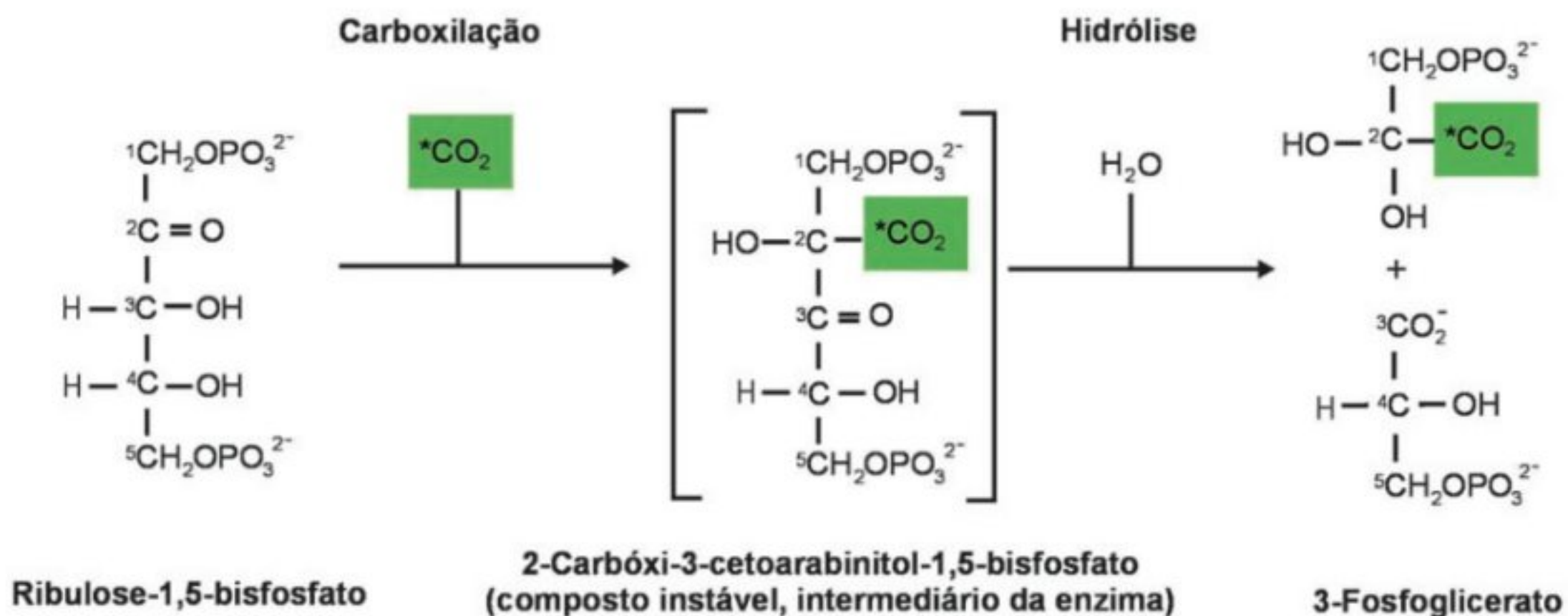
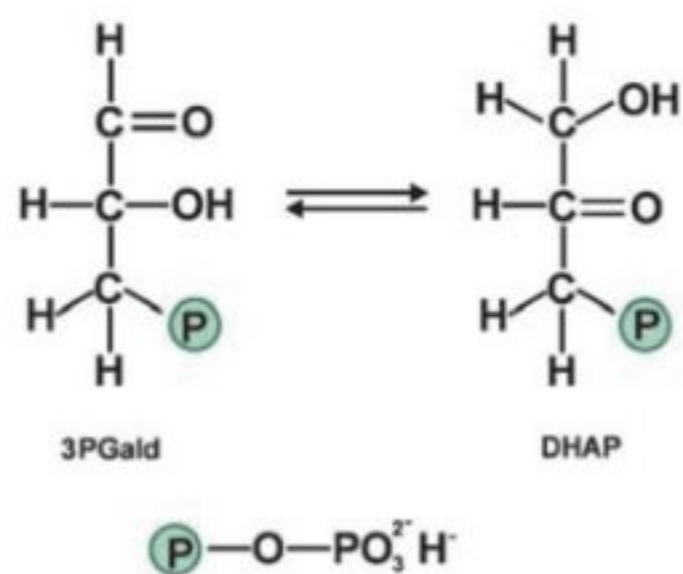


FIGURA 5.28

Reação de carboxilação da ribulose-1,5-bisfosfato, catalisada pela rubisco. A molécula de 3PGA superior, no esquema, contém o novo átomo de carbono recém-incorporado, indicado com asterisco. (Taiz e Zaiger, 1991, modificado.)

**FIGURA 5.29**

Reação de conversão e estrutura das trioses-fosfato – gliceraldeído-3-fosfato (3PGald) e diidroxiacetona-fosfato (DHAP). A interconversão entre 3PGald e DHAP é catalisada pela enzima triose-fosfato isomerase.

10 moléculas de triose-P ($10 \times 3\text{C}$) regeneradas na forma de seis moléculas de RuBP ($6 \times 5\text{C}$), e assim sucessivamente. A partir das moléculas de triose-P, os principais produtos da fotossíntese, o *amido* e a *sacarose*, podem ser então sintetizados, conforme veremos adiante.

BALANÇO ENERGÉTICO DO CICLO C_3

Do ponto de vista energético, a fixação de uma molécula de CO_2 exige três moléculas de ATP e duas de NADPH. Duas moléculas de ATP e duas de NADPH são necessárias para movimentar a fase redutiva do ciclo (equações [12] e [13]). Uma terceira molécula de ATP é exigida na fase final da etapa regenerativa do ciclo C_3 , quando a ribulose fosfato (RuP) é transformada em RuBP. Assim, a produção de uma molécula de triose-P exige nove moléculas de ATP e seis moléculas de NADPH (Fig. 5.30).

REGULAÇÃO DO CICLO C_3

O ciclo de Calvin opera na interface entre o transporte de elétrons e conjunto de carboidratos que origina, sendo portanto regulado por fatores que afetam o processo fotoquímico e por fatores que interferem na demanda do organismo por compostos orgânicos (Lawlor, 1987). Além disso, a presença de concentrações adequadas de açúcares-P intermediários é fundamental para garantir a alta eficiência energética apresentada pelo ciclo C_3 . Essa condição é garantida pela fina regulação desse ciclo. Como nas demais vias metabólicas, os pontos críticos de tal regulação são essencialmente as *reações irreversíveis*. No ciclo C_3 , as etapas reguladoras críticas compreendem a *reação de carboxilação* catalisada pela rubisco e as quatro reações da *etapa regenerativa* catalisadas pelas enzimas: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Fig. 5.30), frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase; Fig. 5.30), a sedo-heptulose-1,7-bisfosfatase (SBPase; Fig. 5.30) e a ribulose-5-fosfato cinase (Fig. 5.30).

Sabemos que a atividade enzimática pode ser afetada pela quantidade de cada enzima e por mecanismos que modulam a

atividade das enzimas já existentes no estroma do cloroplasto. A regulação da expressão de genes do núcleo e dos cloroplastos afeta a quantidade das enzimas. Entretanto, diferentes mecanismos que atuam em curto prazo (segundos ou minutos) podem aumentar ou diminuir a atividade das enzimas já formadas. O ciclo C_3 é regulado pela luz, sendo plenamente ativo em presença de luz e inativo no escuro.

Regulação da rubisco

A ativação da rubisco pela luz se dá através de um mecanismo complexo. Este envolve simultaneamente o fluxo de Mg^{2+} dos tilacóides para o estroma, ativação da enzima pelo CO_2 e Mg^{2+} , aumento do pH do estroma, bem como a ação de uma proteína ativadora denominada *rubisco ativase* (Buchanan *et al.*, 2000). Em presença de luz, um mutante de *Arabidopsis thaliana*, deficiente na proteína rubisco ativase, caracteriza-se por um baixo nível de atividade da rubisco e exige uma elevada concentração de CO_2 para crescer (Woodrow & Berry, 1988).

O processo de ativação é *reversível* e compreende, inicialmente, a formação de um complexo ternário enzima- CO_2 - Mg^{2+} ao qual se liga, em seguida, a RuBP. As moléculas de CO_2 que participam do processo de ativação são distintas daquelas que atuam como substrato (Fig. 5.31A). A reação de ativação pelo CO_2 , denominada de carbamilação, produz mudanças na conformação estrutural, aumentando a atividade catalítica da enzima. A enzima *rubisco ativase* remove ribulose bisfosfato ligada à rubisco inativa, numa reação dependente de ATP. A rubisco livre pode então reagir com o CO_2 e o Mg^{2+} (Fig. 5.31B). Em estudos recentes, tem-se verificado que a própria rubisco ativase é uma enzima fortemente regulada que responde a sinais organo-específicos, à luz e ao relógio circadiano das plantas.

O extrato de algumas espécies (*Phaseolus vulgaris*, *Solanum tuberosum*) pode conter um potente inibidor da rubisco denominado **2-carboxiarabinitol-1-fosfato (CA-1-P)**. Geralmente, esse composto encontra-se presente naquelas espécies que apresentam variações diurnas na atividade da rubisco. O CA-1-P acumula-se no escuro ou sob baixa intensidade luminosa, ligando-se à forma ativa da rubisco (Gutteridge & Gatenby, 1995).

Regulação das enzimas da fase regenerativa do ciclo C_3

O mecanismo de ativação das quatro enzimas da fase regenerativa do ciclo C_3 (ver Regulação do ciclo C_3) pela luz é diferente do mecanismo da rubisco. A sua ativação envolve a participação da ferredoxina dos cloroplastos e de uma proteína denominada *tiorredoxina* (Buchanan, 1992). As tiorredoxinas são proteínas de ferro-enxofre de baixo peso molecular, amplamente distribuídas nos reinos animal e vegetal e entre as bactérias, que desempenham várias funções celulares, inclusive a de regulação. As tiorredoxinas sofrem processos reversíveis de redução e oxidação em dois resíduos de cisteína próximos, formando grupamentos sulfidrílica, quando reduzidas (-SH HS-), e pontes dissulfeto, quando oxidadas (-S-S-).

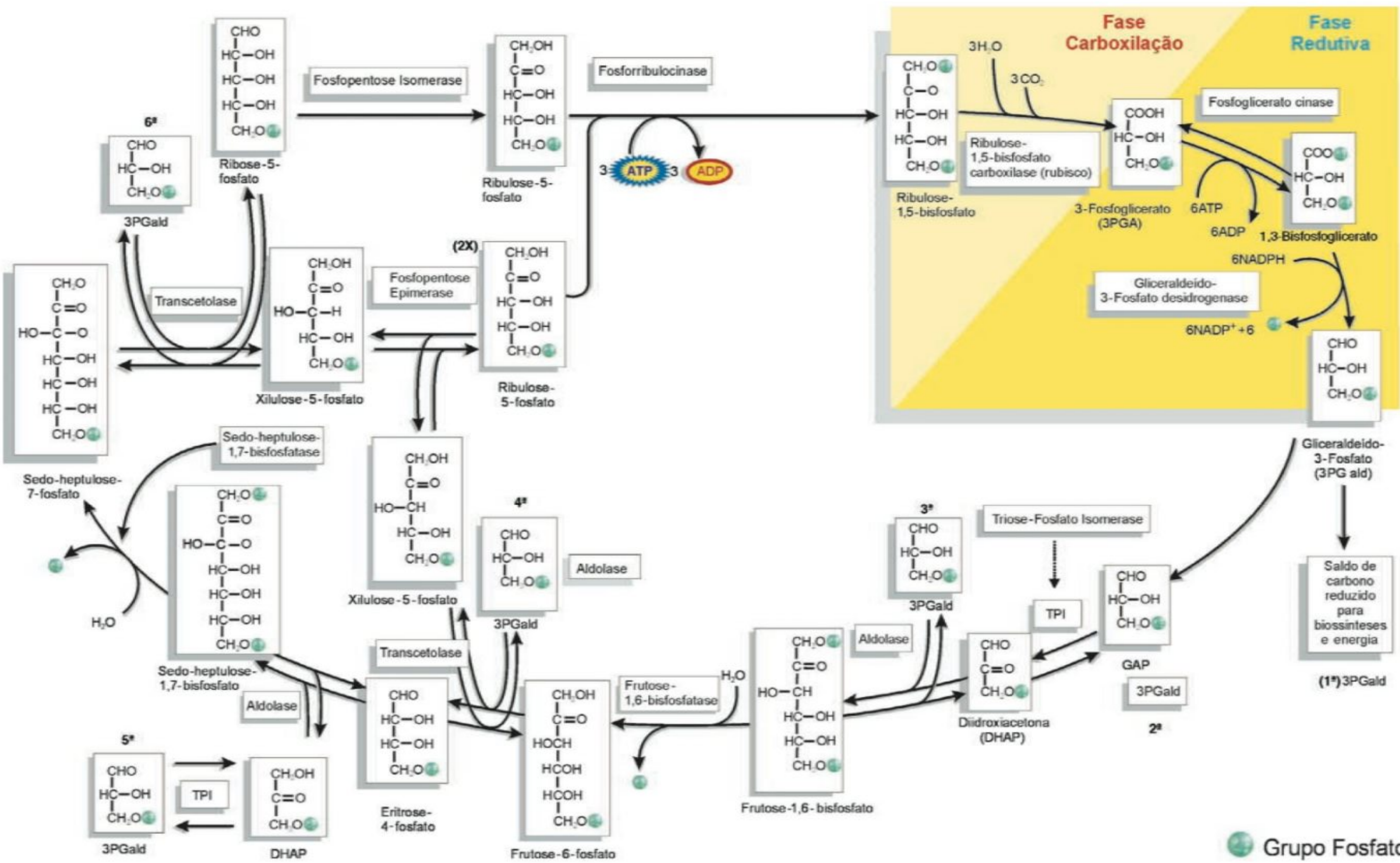
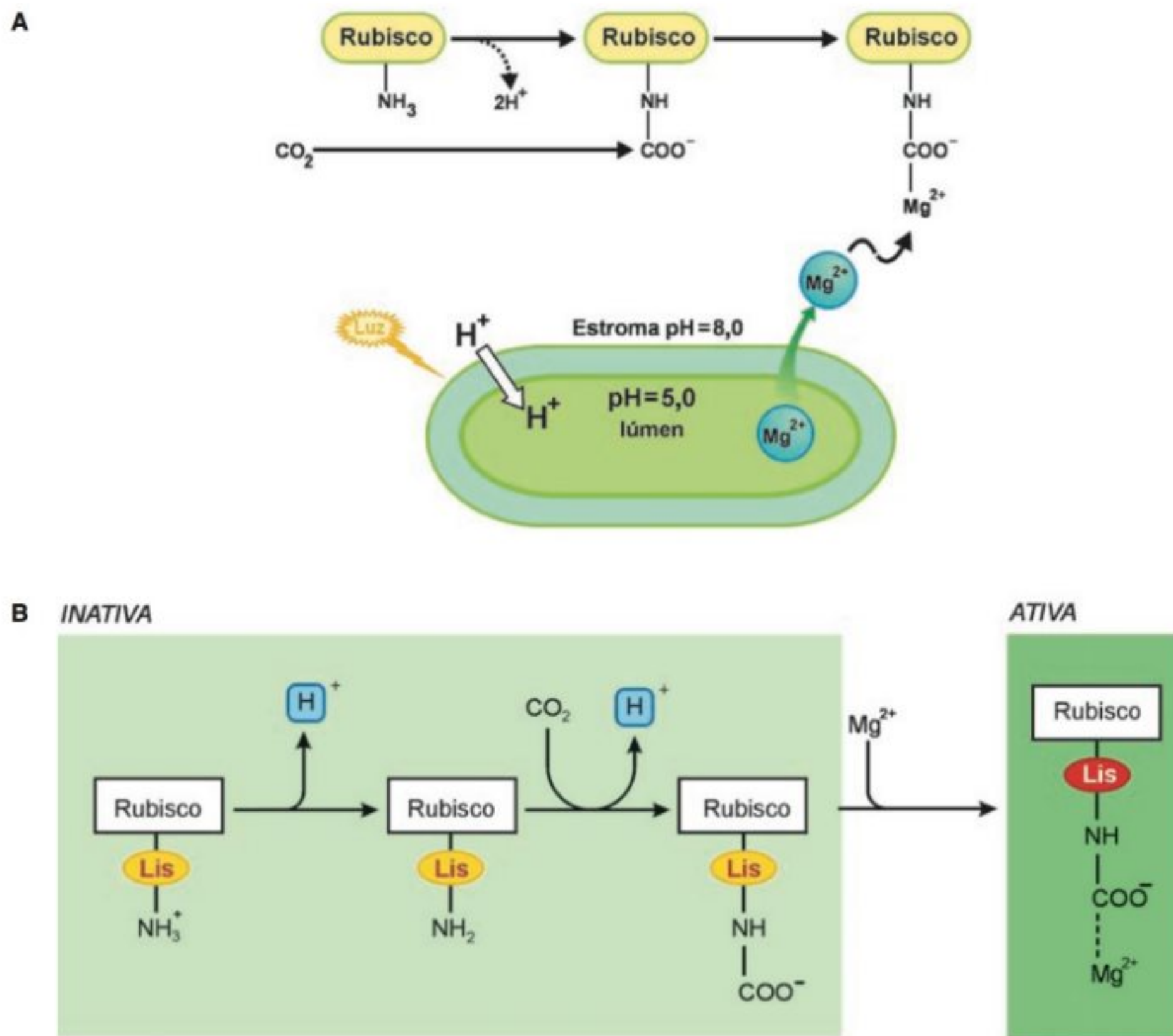


FIGURA 5.30 Esquema do ciclo de Calvin completo. (Buchanan *et al.*, 2000, redesenhado.)

**FIGURA 5.31**

Modelo de regulação da rubisco. (A) A ativação da rubisco é catalisada pela rubisco ativase e favorecida pelo aumento do pH do estroma e da concentração de Mg^{2+} decorrentes do fluxo fotossintético de elétrons nos cloroplastos iluminados. (B) A rubisco ativase remove a ribulose-1,5-bisfosfato ligada à rubisco inativa e descarbamila, numa reação dependente de ATP. A rubisco livre pode então ser ativada por carbamilação ao se ligar ao CO_2 e, a seguir, ao Mg^{2+} . (Hopkins, 1998, modificado.)

O sistema ferredoxina/tiorredoxina, formado pela ferredoxina, pela ferredoxina-tiorredoxina redutase (FTR) e pela tiorredoxina, faz parte de um mecanismo geral de regulação enzimática mediado pela luz (Fig. 5.32). Nos cloroplastos iluminados, a ferredoxina recebe elétrons diretamente do Fotossistema I e, em seguida, reduz as tiorredoxinas. Esta última reação é mediada pela enzima ferredoxina-tiorredoxina redutase. Na seqüência, as tiorredoxinas reduzem grupamentos dissulfeto das *enzimas-alvo*, que passam, então, para um estado ativado. No escuro, através de um mecanismo ainda desconhecido, essas enzimas voltam ao estado oxidado, tornando-se novamente inativas (Buchanan, 1992).

A fotorrespiração e o ciclo C_2

Até o início da década de 70, alguns fenômenos fotossintéticos representavam verdadeiros enigmas:

1. Desde 1920, a partir dos experimentos de Otto Warburg, sabia-se que a assimilação fotossintética de CO_2 é inibida pelo O_2 (*efeito Warburg*). Como se pode observar na Fig.

5.33, quanto maior a quantidade de O_2 no meio ambiente, menor a taxa de fotossíntese de plantas com metabolismo C_3 . As taxas fotossintéticas são medidas através do consumo de CO_2 . Verificou-se, ainda, que o efeito inibitório do O_2 podia ser atenuado, ou mesmo eliminado, elevando-se a concentração de CO_2 da atmosfera.

2. J. P. Decker (1955), ao estudar a fotossíntese de folhas de tabaco (planta C_3), mantidas numa câmara selada, observou um aumento na taxa de liberação de CO_2 imediatamente após desligar a iluminação incidente sobre as folhas. Nesse experimento, as folhas eram mantidas iluminadas até que a concentração de CO_2 no interior da câmara se estabilizasse num valor conhecido como *ponto de compensação de CO_2* . Essa concentração de CO_2 se estabelece no momento em que a taxa de fixação de CO_2 pela fotossíntese se iguala à taxa de liberação de CO_2 pela respiração e fotorrespiração. Decker acompanhou a liberação de CO_2 , na transição luz-escuro, verificando que, nos primeiros 2 minutos de escuro, havia um aumento brusco na liberação de CO_2 seguido de um declínio até valores constantes e que seriam

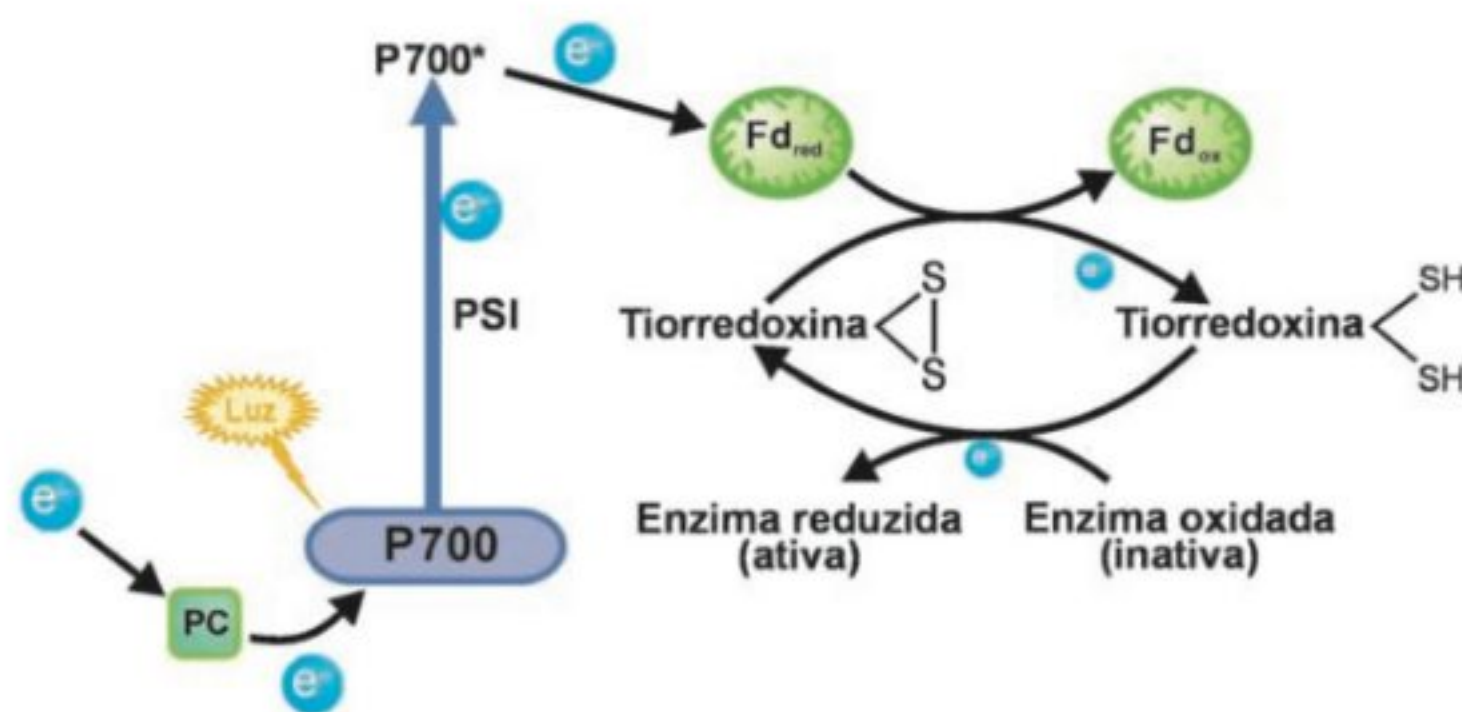


FIGURA 5.32

Regulação da atividade de enzimas pelo sistema ferredoxina/tiorredoxina. Algumas enzimas do ciclo C_3 são ativadas pela luz através desse sistema. (Hopkins, 1998, modificado.)

normalmente esperados em condições de escuro devido à respiração celular. Essa liberação transitória e intensa de CO_2 , pós-iluminação, foi interpretada como sendo dependente da luz. Daí a origem do termo *fotorrespiração*, que, dos pontos de vista bioquímico e fisiológico, nada tem a ver com a respiração celular propriamente dita. Os únicos pontos comuns entre os dois processos é que ambos consomem O_2 e dão origem à liberação de CO_2 .

3. A origem bioquímica do glicolato gerado durante a fotossíntese.

Todos esses fenômenos experimentais, aparentemente independentes, passaram a ser compreendidos e integrados a partir do momento em que W.L. Ogren e G. Bowes, em 1971, demonstraram que a rubisco também tem função *oxigenase* e que o glicolato é formado a partir dessa reação (Fig. 5.25). Até aquele ano,

só se conhecia a função carboxilase da rubisco. Demonstrou-se, então, que o CO_2 e o O_2 moleculares competem pelo sítio ativo da rubisco e pelo mesmo substrato (RuBP). Em condições atmosféricas normais (0,036% de CO_2 e 21% de O_2) e sob temperaturas moderadas (20-25°C), a proporção entre as funções carboxilase/oxigenase é de cerca de 3:1. Ou seja, de cada quatro reações da rubisco, três são de carboxilação e uma é de oxigenase. A diminuição da concentração do O_2 ou aumento da concentração de CO_2 junto ao sítio ativo da rubisco podem reduzir a fotorrespiração devido ao aumento da função carboxilase em detrimento da função oxigenase. Essa competição entre O_2 e CO_2 explica a inibição da fotossíntese das plantas C_3 sob baixas concentrações de CO_2 ou sob altas concentrações de O_2 (efeito Warburg).

O CICLO C_2

O 2-fosfoglicolato (2P-glicolato), gerado pela função oxigenase da rubisco, é ponto de partida da *via bioquímica C_2* que envolve enzimas localizadas em três organelas: cloroplastos, *peroxissomos* e mitocôndrias (Fig. 5.34). Uma vez formado, o 2P-glicolato é rapidamente hidrolisado no estroma dos cloroplastos por uma fosfatase específica denominada *fosfoglicolato fosfatase*. O glicolato é transportado para fora do cloroplasto através de um carreador específico, localizado na membrana interna, em troca com o glicerato. Já no interior dos *peroxissomos*, o glicolato é oxidado a glioxilato e, em seguida, submetido a uma reação de transaminação que o converte no aminoácido *glicina*, conforme representado a seguir:

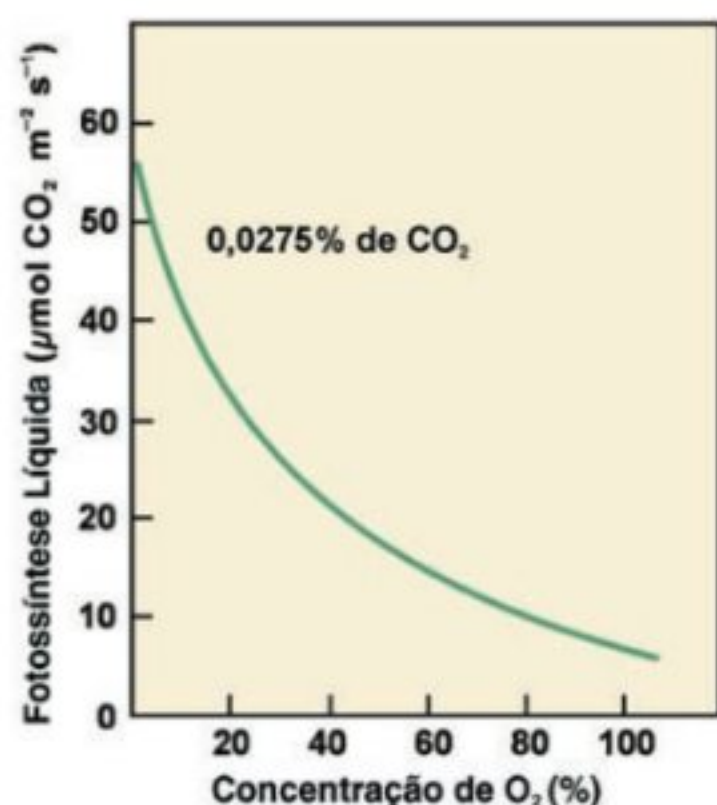
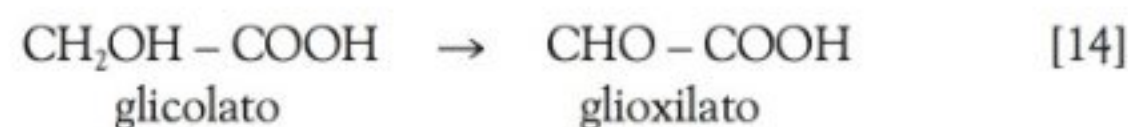
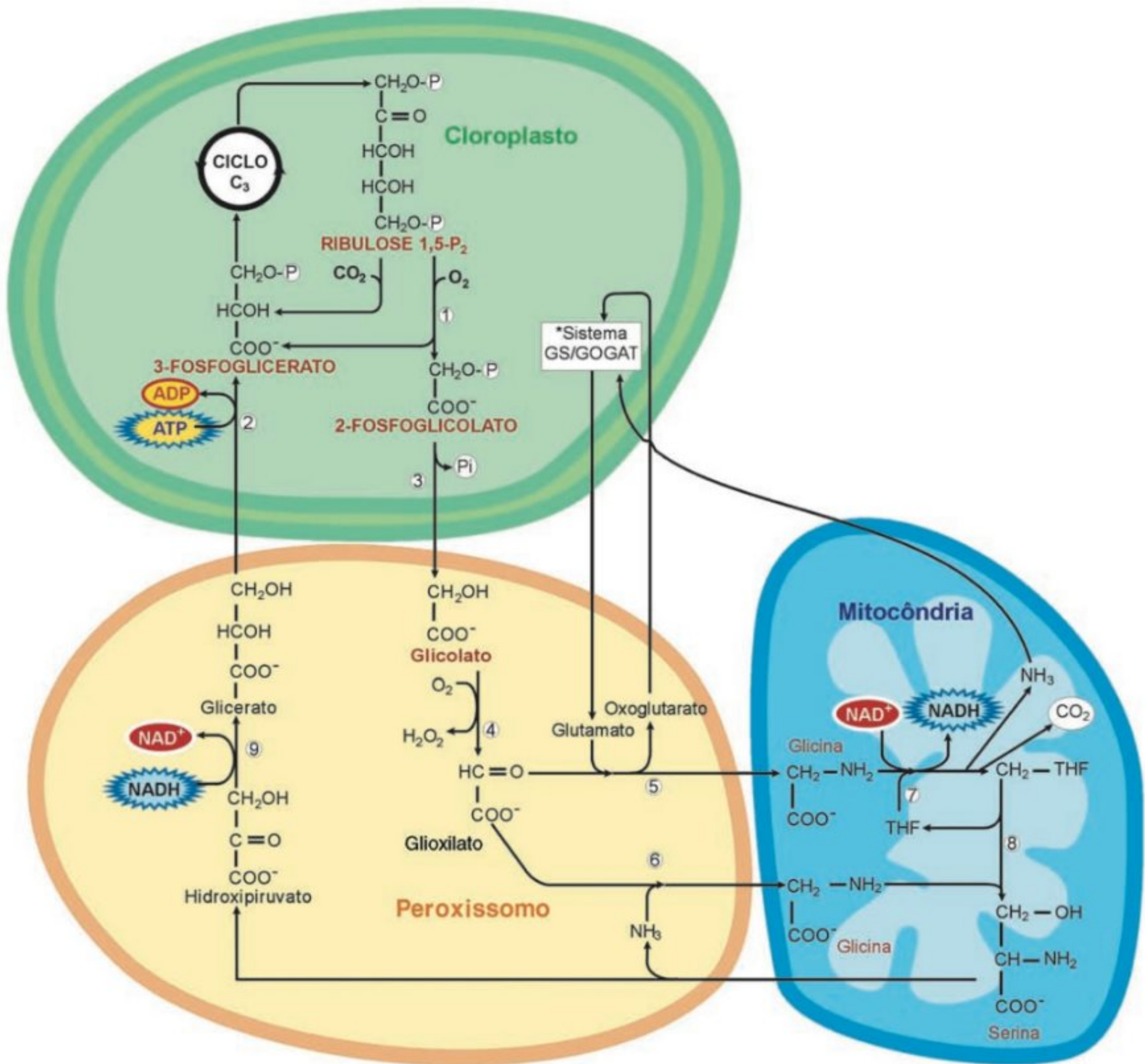


FIGURA 5.33

Inibição da fotossíntese líquida em plantas de soja (C_3) pelo O_2 . Esse efeito inibitório do O_2 sobre a fotossíntese foi observado pela primeira vez em 1920, sendo conhecido como efeito Warburg. A atmosfera atual contém 20,9% de O_2 e 0,036% de CO_2 . (Salisbury & Ross, 1992, modificado.)



O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerado na reação de formação do glioxilato é decomposto nos próprios *peroxissomos* pela enzima catalase. A glicina é transferida para as mitocôndrias,



- 1. Rubisco
 - 2. Glicerato cinase
 - 3. 2-Fosfoglicolato fosfatase
 - 4. Glicolato oxidase
 - 5. Glutamato: glioxilato aminotransferase
 - 6. Serina: glioxilato aminotransferase
 - 7. Glicina descarboxilase
 - 8. Serina hidroximetil transferase
 - 9. NAD⁺ hidroxipiruvato redutase
- *GS – glutamina sintetase; GOGAT – glutamina: oxoglutarato aminotransferase

FIGURA 5.34

Esquema da via bioquímica do glicolato (ciclo C₂), responsável pela fotorrespiração. A via C₂ envolve três organelas: cloroplasto, peroxissomos e mitocôndrias. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

onde duas moléculas de glicina (4 carbonos) são convertidas numa molécula do aminoácido *serina* (3 carbonos) e em uma molécula de CO₂. Portanto, a fonte imediata do CO₂ liberado na fotorrespiração é a molécula de glicina. Normalmente, as taxas de liberação de CO₂ pela fotorrespiração são aproximadamente

cinco vezes maiores do que as taxas do ciclo de Krebs (Leegood *et al.*, 1995).

A formação de serina, a partir de duas moléculas de glicina, ocorre através de uma série complexa de reações que se processam em duas etapas. Primeiramente, uma molécula de glicina é descar-

boxilada pela enzima *glicina descarboxilase*, gerando CO_2 e amônia (NH_3), com a simultânea transferência de um grupo metílico para uma molécula intermediária denominada *tetraidrofolato*. Na segunda etapa, o grupamento C_1 do metilenotetraidrofolato é transferido para uma segunda molécula de glicina, formando uma molécula de serina, numa reação catalisada pela enzima *serina transidroximetilase*. A serina produzida nas mitocôndrias é então exportada para os peroxissomos, onde é submetida a uma reação de transaminação formando o *hidroxipiruvato*. Este último, pela ação da enzima *hidroxipiruvato redutase*, é reduzido a glicerato.

A última reação do ciclo C_2 dá-se com a entrada do glicerato no interior dos cloroplastos, através de um co-transportador da membrana interna dos cloroplastos que faz a troca do glicerato pelo glicolato. O glicerato é fosforilado a 3PGA pela *glicerato cinase*, sendo então incorporado ao ciclo C_3 . Assim, a cada duas moléculas de glicolato geradas pela rubisco, três carbonos retornam ao ciclo C_3 na forma de 3PGA, enquanto um carbono já reduzido é efetivamente perdido na forma de CO_2 . Isso significa que 75% do carbono originalmente incorporado ao 2P-glicolato é recuperado pela via C_2 através da reintegração do 3PGA ao ciclo C_3 .

Algumas algas e bactérias fotossintetizantes excretam quantidades maciças de glicolato para o meio externo quando a disponibilidade de CO_2 é fortemente limitada ou a concentração de oxigênio repentinamente elevada. Tal fenômeno indica que esses organismos possuem uma baixa capacidade de metabolizar o glicolato. Experimentalmente, através do estudo de mutantes e do uso de inibidores da via fotorrespiratória, já se comprovou que o acúmulo de 2P-glicolato ou de glicolato é inibitório para a assimilação fotossintética do CO_2 . O acúmulo de glicolato, glioxilato ou glicina em plantas mutantes, deficientes em enzimas do ciclo C_2 , acarreta a diminuição do estado de ativação da rubisco, provocando o decréscimo da fotossíntese e da própria fotorrespiração. De modo geral, mutações na via fotorrespiratória são letais (Lorimer & Andrews, 1981).

Cabe ainda destacar que a liberação de CO_2 , durante a conversão de glicina a serina, é acompanhada da liberação de quantidades equivalentes de nitrogênio na forma de amônia. Como a NH_3 é tóxica para os tecidos vegetais, as folhas dispõem de um eficiente mecanismo que permite a sua imediata recuperação. Nos cloroplastos, o NH_3 é rapidamente reincorporado em

moléculas orgânicas através de um sistema enzimático constituído por duas enzimas: a *glutamina sintetase* e a *glutamato sintase*.

FATORES QUE AFETAM AS TAXAS DE FOTORRESPIRAÇÃO

As taxas de fotorrespiração são tão dinâmicas quanto as taxas de fotossíntese, sofrendo alterações com a luz, concentração de CO_2 e temperatura. Os principais fatores que influenciam as taxas de fotorrespiração são razão CO_2/O_2 e a temperatura foliar. Conforme já mencionamos, a eficiência fotossintética das plantas C_3 é significativamente afetada pela fotorrespiração. Nas condições atmosféricas normais – 0,036% de CO_2 e 21% de O_2 –, a fotorrespiração pode ocasionar uma diminuição na assimilação líquida de carbono de 20 a 50%, dependendo da temperatura.

As taxas de fotorrespiração aumentam à medida que a intensidade luminosa e a temperatura se elevam. A fotorrespiração é favorecida pelo aumento da temperatura foliar porque a solubilidade do CO_2 no meio aquoso tende a diminuir mais rapidamente que a do O_2 , à medida que a temperatura foliar aumenta (Tabela 5.2). As mudanças na razão $\text{O}_2:\text{CO}_2$ alteram as taxas de fixação de CO_2 e as taxas de fotorrespiração em decorrência do caráter competitivo desses dois substratos pelo sítio ativo da rubisco. Em função de seus efeitos sobre as taxas dos ciclos C_2 e C_3 , as alterações nas concentrações relativas dos gases $\text{O}_2:\text{CO}_2$ podem repercutir significativamente sobre as taxas de crescimento de uma planta, conforme ilustra a Tabela 5.3.

O PAPEL DA FOTORRESPIRAÇÃO

Se a fotorrespiração pode ter repercussões tão negativas para grande parte das espécies vegetais, por que persiste nas espécies vegetais contemporâneas? Por que não foi eliminada através de pressões de seleção no curso da evolução? A fotorrespiração é um processo essencial, inevitável ou ambos? As respostas a tais questões ainda são polêmicas e indefinidas. Mas um fato incontestável é que a fotorrespiração é decorrência de um “defeito” da rubisco: a presença da função oxigenase, origem do glicolato. Muitos pesquisadores defendem a hipótese de que a atividade oxigenase é uma consequência inevitável do mecanismo de reação da própria carboxilação.

TABELA 5.2

Solubilidade do oxigênio e do dióxido de carbono na água em equilíbrio com diferentes temperaturas do ar (Leegood, 1993)

Temperatura (°C)	Solubilidade (μM)		Razão [O_2/CO_2]
	21% O_2	0,035% CO_2	
10	348	17	20,5
20	299	13	23,0
30	230	9	25,5
40	224	8	28,0

TABELA 5.3
Efeito de diferentes concentrações relativas de oxigênio e dióxido de carbono sobre o crescimento de *Mimulus cardinales*, uma planta C₃ (Leegood, 1993)

Concentração de CO ₂ (ppm)	Aumento da massa seca (mg por planta por 10 dias)	
	21% O ₂	2% O ₂
110	10	150
320	565	1.076
640	804	1.144

Não podemos esquecer que, no período inicial da história da Terra, a atmosfera era rica em CO₂ e muito pobre em O₂ (0,02%). À medida que a concentração do O₂ atmosférico foi aumentando, pela própria atividade dos organismos fotossintetizantes, a competição do O₂ pelo sítio ativo da rubisco foi se tornando cada vez mais importante. Como a ameaça representada pela elevação crescente do O₂ atmosférico não foi acompanhada por modificações no funcionamento da rubisco, enquanto oxigenase, mecanismos adequados de eliminação do glicolato tornaram-se necessários. Muitos organismos aquáticos desfosforilam o 2-fosfoglicolato e excretam o glicolato. Nas plantas superiores, por sua vez, a via C₂ permite a recuperação da maior parte do carbono desviado do ciclo C₃ pela função oxigenase da rubisco. Conforme já vimos, 75% do carbono desviado do ciclo C₃, na forma de glicolato, são reintegrados à via C₃ por intermédio do glicerato gerado pela via C₂ (Fig. 5.34).

Alguns especialistas atribuem à fotorrespiração um papel importante na proteção das plantas contra a fotoinibição da fotossíntese. A fotorrespiração representaria um dreno consumidor do excesso de ATP e NADPH (ou ferredoxina reduzida) produzidos quando os níveis de radiação são excessivamente elevados. Funcionaria, portanto, como uma “válvula de escape” para a dissipação da energia metabólica excedente. Esse excesso normalmente ocorre em dias ensolarados, durante períodos de seca. Nessas condições, o CO₂ não pode entrar no mesófilo foliar devido ao fechamento dos estômatos, limitando o ciclo reutivo C₃, principal processo consumidor da energia fotoquímica. Na ausência da fotorrespiração, o acúmulo exagerado de energia fotoquímica pode resultar em reações de dissipação de energia danosas à estrutura fotoquímica, ou seja, pode ocorrer a fotoxidação dos fotossistemas e antenas. Essa hipótese é suportada pela perda de capacidade fotossintética (denominada fotoinibição) que pode ser observada quando plantas são iluminadas na ausência simultânea de O₂ e de CO₂. Além disso, cálculos estequiométricos sobre o consumo de ATP e NADPH durante a operação combinada dos ciclos C₃/C₂ indicam que o consumo de energia aumenta na medida em que a concentração de CO₂ da atmosfera circundante diminui e se aproxima do ponto de compensação de CO₂. Nesse momento, para cada CO₂ fixado, o consumo de energia fotoquímica pelos ciclos C₂/C₃ é aproximadamente três vezes maior do que o consumo do ciclo C₃ isoladamente (Lorimer

& Andrews, 1981). O aumento das taxas do ciclo de C₂ elevam o consumo de energia para a fixação de CO₂. Durante períodos de deficiência hídrica, o ponto de compensação de CO₂ pode ser rapidamente atingido no interior dos espaços aéreos do mesófilo foliar, enquanto a concentração de O₂ tende a permanecer estabilizada em torno do valor atmosférico de 21%.

Mecanismos fotossintéticos de concentração de CO₂

Em algumas espécies de plantas, a fotorrespiração é tão baixa que não pode ser detectada. Isso não se deve a propriedades diferenciadas da rubisco, mas sim a mecanismos especiais de acumulação de CO₂ nas vizinhanças da enzima. Na presença de concentrações suficientemente elevadas de CO₂, a reação de oxigenase é suprimida. Em plantas vasculares, são conhecidos dois mecanismos concentradores de CO₂ no sítio de carboxilação da rubisco, os quais analisaremos a seguir.

MECANISMO C₄

O mecanismo concentrador de CO₂ das plantas C₄ baseia-se num ciclo de carboxilação e descarboxilação que se distribui entre dois tipos diferenciados de células fotossintéticas: as células do mesófilo e as células da bainha perivascular (Fig. 5.35). As células do mesófilo e da bainha perivascular apresentam notáveis diferenças em suas propriedades bioquímicas, fisiológicas e ultra-estruturais. A bioquímica da via C₄ é, portanto, fortemente integrada a adaptações anatômicas especiais, conhecidas em seu conjunto como anatomia do tipo Kranz (Fig. 5.36; termo alemão que significa coroa). Essa anatomia foliar diferenciada tem duas consequências fisiológicas particularmente importantes. A primeira é que o CO₂ pode ser concentrado nas células da bainha perivascular com reduzidas perdas por difusão. As paredes dessas células são espessas e apresentam uma baixa permeabilidade aos gases. A segunda é que a maioria das células do mesófilo situa-se imediatamente adjacente a células da bainha perivascular, sendo conectadas por numerosos plasmodesmas. Isso possibilita uma cooperação dinâmica e eficiente entre os dois tipos celulares ao desempenharem as suas tarefas fotossintéticas específicas. Medidas experimentais demonstram que a concentração de CO₂

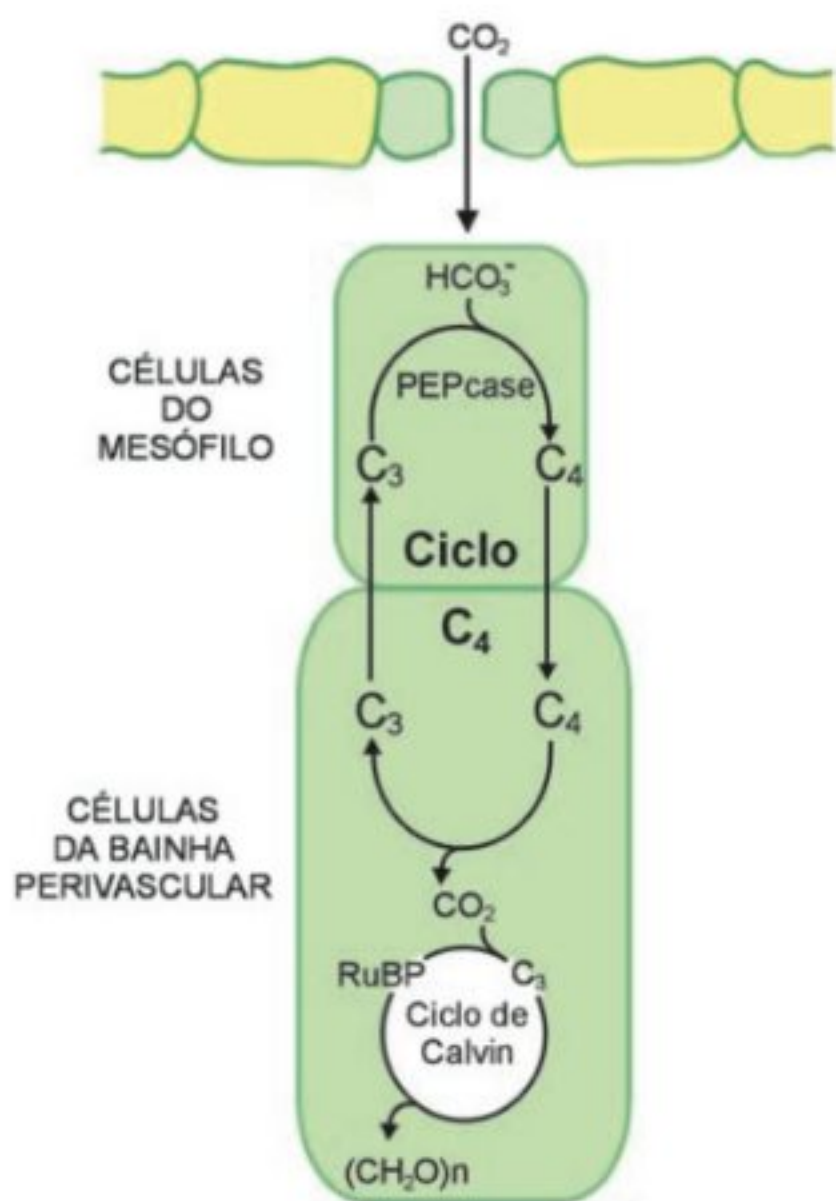


FIGURA 5.35

O ciclo C_4 de assimilação fotossintética do carbono envolve divisão de tarefas entre dois tipos de células (células do mesófilo e células da bainha perivascular) e quatro etapas: (1) carboxilação do ácido fosfoenolpirúvico (PEP) catalisada pela PEP carboxilase, formando um ácido orgânico de quatro carbonos nas células do mesófilo; (2) transporte do composto de quatro carbonos para as células da bainha perivascular; (3) descarboxilação do composto de quatro carbonos gerando CO_2 e uma molécula orgânica de três carbonos; (4) transporte do ácido orgânico de três carbonos de volta às células do mesófilo e regeneração do PEP. (Leegood, 1993.)

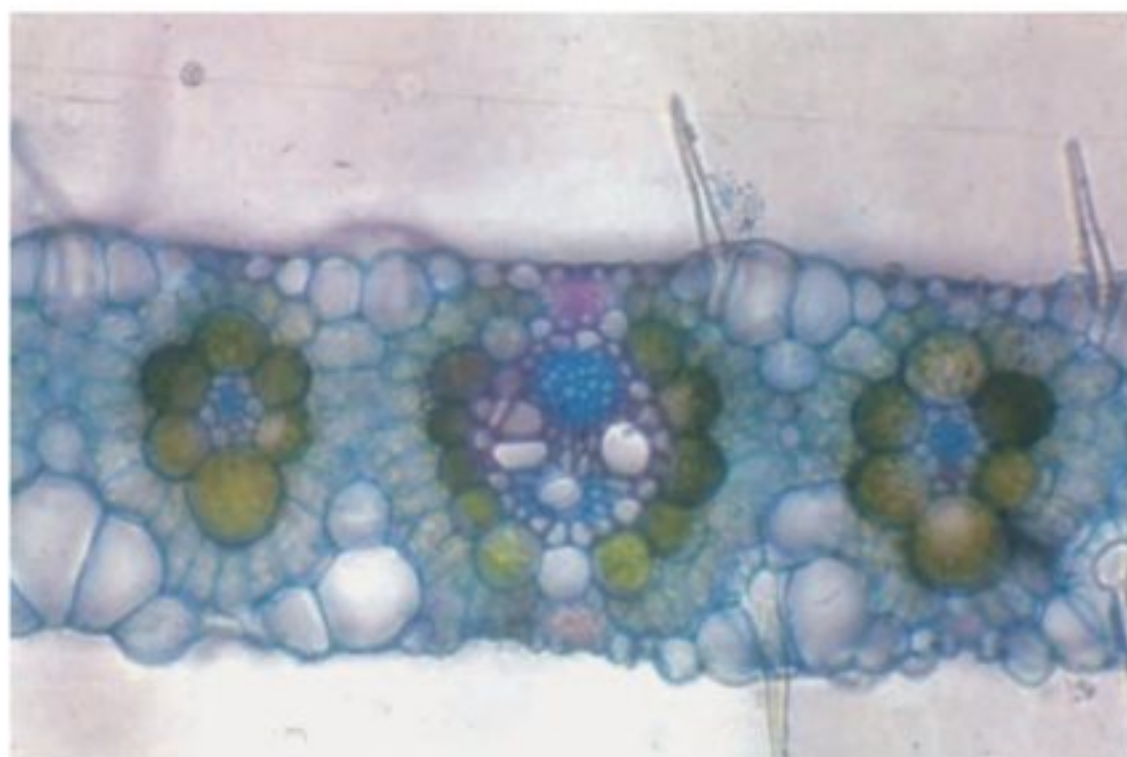


FIGURA 5.36

Corte transversal de uma folha de planta C_4 (milho), caracterizando a anatomia Kranz. Em destaque, as células da bainha perivascular, envolvendo os feixes vasculares, contendo cloroplastos (10 \times). (Fotografia gentilmente cedida pelo Departamento de Botânica da UFRRJ.)

nas células da bainha perivascular pode atingir valores 10 vezes superiores aos valores normalmente encontrados na atmosfera (Furbank & Taylor, 1995).

As espécies C_4 são predominantemente tropicais e subtropicais, ocorrendo em 18 famílias de plantas superiores (Smith, 1998). Estas incluem culturas importantes como o milho, o sorgo, a cana-de-açúcar, assim como 8 das 10 piores ervas daninhas do mundo. A tiririca (*Cyperus rotundus*), o capim-colchão (*Digitaria horizontalis*) e o capim-arroz (*Echinochloa colonum*) são exemplos de plantas daninhas com metabolismo C_4 . Menos de 1% das angiospermas são plantas C_4 , e a maioria das espécies são monocotiledôneas, principalmente gramíneas e ciperáceas. Entretanto, mais de 300 espécies C_4 são dicotiledôneas. Pelo menos 11 gêneros incluem espécies C_3 e espécies C_4 (Leegood, 1993).

Supõe-se que as principais forças evolutivas que conduziram ao surgimento das plantas C_4 tenham sido a progressiva redução da concentração do CO_2 atmosférico em combinação com o estresse hídrico e altas temperaturas. Essas condições limitam extremamente a aquisição de CO_2 em plantas com fotossíntese C_3 , favorecendo ao máximo a fotorrespiração. As plantas C_4 são especialmente bem adaptadas a condições ambientais onde a irradiância e a temperatura são elevadas, apresentando ainda uma boa tolerância ao estresse hídrico (Lawlor, 1987).

O surgimento da via C_4 é um evento relativamente recente na evolução do reino vegetal. Se o tempo de evolução da fotossíntese geradora de O_2 fosse projetado num intervalo de 24 horas, a fotossíntese C_4 teria surgido durante a última meia hora. A descoberta de espécies intermediárias C_3 - C_4 confirma a hipótese de uma evolução gradual a partir de ancestrais C_3 . Outro aspecto importante é que a fotossíntese do tipo C_4 distribuiu-se entre diferentes grupos de plantas não relacionados filogeneticamente. Por esse motivo, aceita-se a hipótese de que esse mecanismo tenha evoluído independentemente diversas vezes. Isso talvez permita explicar as variações bioquímicas que resultaram em diferentes tipos de mecanismo C_4 . Essas diferenças são observadas no processo de *descarboxilação*, conforme veremos mais adiante.

O ciclo bioquímico C_4

Na década de 1960, Kortschach, no Havai, e Hatch & Slack, na Austrália, estudavam a fixação de CO_2 em milho, gramíneas tropicais e em cana-de-açúcar utilizando folhas tratadas com $^{14}CO_2$, em experimentos similares aos realizados pelo grupo do Dr. Calvin. Tais investigações revelaram que, nessas espécies, o primeiro produto estável da fotossíntese era uma molécula de **quatro carbonos** (oxaloacetato e malato). A reação de carboxilação inicial das plantas C_4 foi descoberta logo em seguida. A enzima *PEP carboxilase* (PEPcase) catalisa a carboxilação irreversível do ácido fosfoenolpirúvico (PEP), tendo como produto o imediato ácido oxaloacético (AOA), conforme indicado a seguir:



Convém destacar que a PEPcase utiliza carbono na forma de bicarbonato (HCO_3^-), enquanto a rubisco utiliza o carbono na

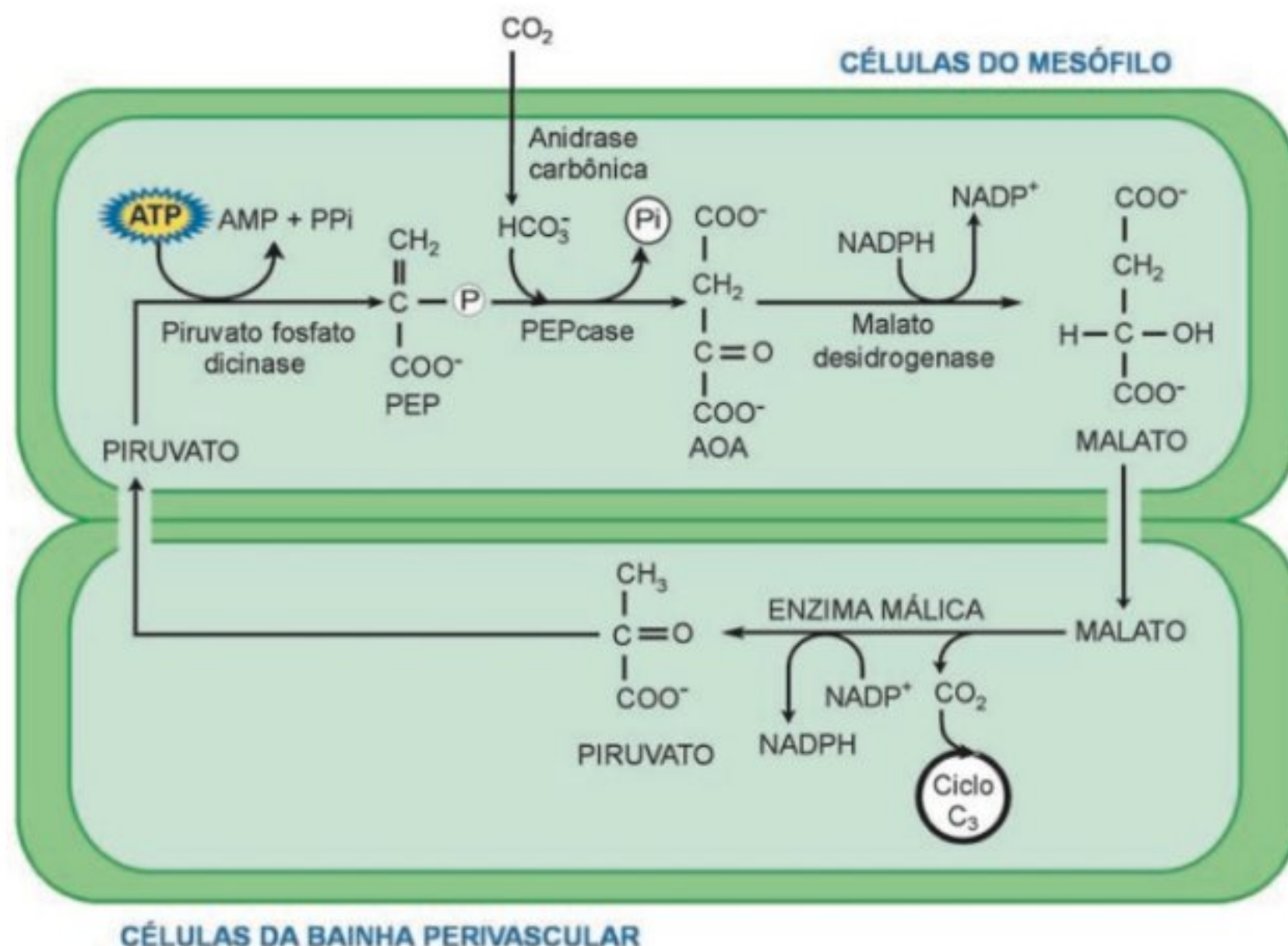


FIGURA 5.37

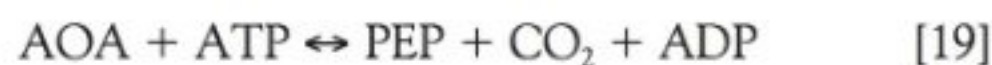
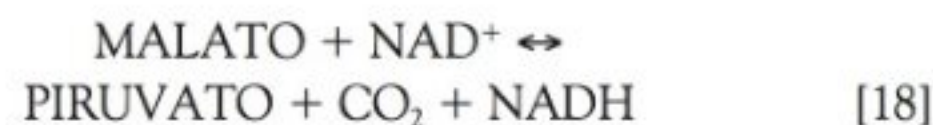
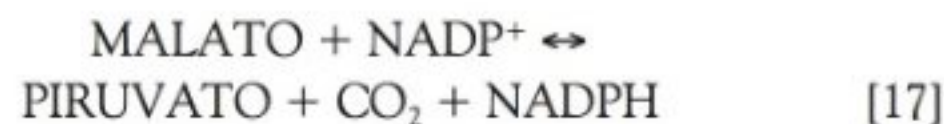
A via fotossintética C_4 é responsável pelo “bombeamento” bioquímico do CO_2 da atmosfera para o ciclo de Calvin, que opera nos cloroplastos das células da bainha perivascular. A regeneração de cada molécula de PEP, a partir do piruvato, é catalisada pela piruvato fosfato dicinase e exige o gasto de duas moléculas de ATP.

forma de CO_2 . No pH dos fluidos celulares, o CO_2 dissolvido sob a forma de ácido carbônico dissocia-se, formando predominantemente o íon bicarbonato (HCO_3^-). No entanto, a disponibilidade de CO_2 para a rubisco é garantida pela atividade da enzima *anidrase carbônica*, que atua deslocando a reação no sentido da formação de CO_2 .

O ciclo C_4 pode ser convenientemente dividido em três fases: uma carboxilativa, uma descarboxilativa e, finalmente, uma fase regenerativa (Fig. 5.37). O CO_2 atmosférico é fixado no citoplasma das células do mesófilo através da reação catalisada pela PEPcase (*fase carboxilativa*). Dentro das células do mesófilo, o ácido oxaloacético produzido pela ação PEPcase pode ser metabolizado de duas maneiras (Fig. 5.38). Uma envolve a redução do cetoácido a hidroxidoácido. Essa reação ocorre nos cloroplastos e é catalisada pela enzima *NADP-malato desidrogenase* (*NADP-MDHase*). A outra via ocorre através de uma reação citoplasmática mediada por uma *aspartato aminotransferase*. Após a sua formação, malato ou aspartato (4 carbonos) são exportados para as células da bainha perivascular, onde são submetidos a reações de descarboxilação.

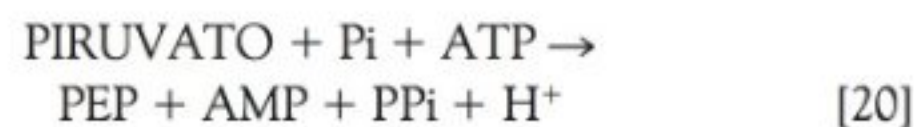
Embora a reação de carboxilação seja comum a todas as plantas C_4 , variações bioquímicas são encontradas na fase de *descarboxilação*. Esta é a base da divisão das plantas C_4 em três subgrupos, de acordo com a enzima que catalisa a reação de descarboxilação (Fig. 5.39). Plantas como o milho, o sorgo, a cana-de-açúcar e a planta daninha *Digitaria sanguinalis* descarboxilam o malato no interior dos cloroplastos das células da bainha perivascular através da *enzima málica dependente de NADP* (equação [17]). Já

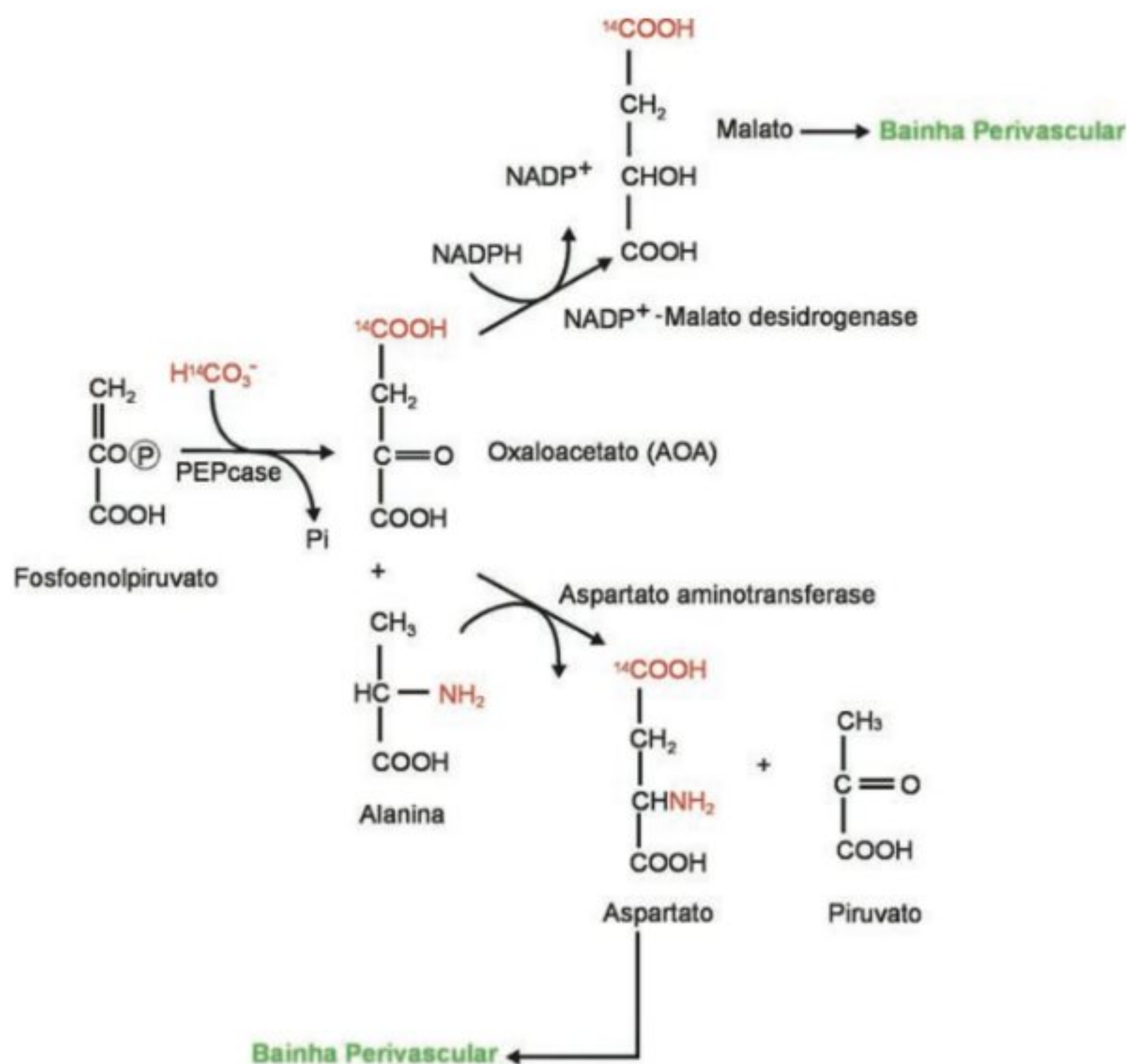
em *Amaranthus* sp. e em *Panicum miliacium* (milheto), a enzima descarboxiladora dominante é a *enzima málica dependente de NAD* (equação [18]), localizada nas mitocôndrias. No terceiro grupo, no qual se encontram plantas do gênero *Spartina* sp. e o *Panicum maximum*, a descarboxilação é catalisada por uma enzima citoplasmática denominada *PEP carboxiquinase* (equação [19]) (Leegood, 1993). Todas as descarboxilases catalisam reações reversíveis, conforme as seguintes equações:



Nos cloroplastos das células da bainha vascular, as moléculas de CO_2 geradas pelas reações de descarboxilação são incorporadas ao ciclo de Calvin-Benson (ciclo C_3). O produto de 3 carbonos resultante retorna às células do mesófilo, onde será utilizado para *regenerar* a molécula primária que reage com o CO_2 atmosférico, o PEP.

Em todos os três subgrupos de plantas C_4 , a *regeneração* do PEP, a partir do piruvato, ocorre nos cloroplastos das células do mesófilo, através de uma reação catalisada pela *enzima piruvato fosfato dicinase*:



**FIGURA 5.38**

O ácido oxaloacético, formado na reação de carboxilação catalisada pela PEPcase, pode ser reduzido a malato ou sofrer uma transaminação, dando origem ao aspartato.

Essa reação é forçada a ocorrer na direção da síntese de PEP devido à hidrólise do PPi (pirofosfato) por uma *pirofosfatase* dos cloroplastos:



Conforme se pode observar na equação [20], a regeneração do PEP, a partir do piruvato, consome duas ligações fosfato do ATP. A manutenção do ciclo C_4 exige, portanto, um gasto adicional de duas moléculas de ATP por molécula de CO_2 fixada. Portanto, nas plantas C_4 , o custo energético total de cada molécula de CO_2 fixada, pela ação conjunta dos ciclos C_3 e C_4 , é de 5 ATP e 2 NADPH. Conseqüentemente, a fixação de CO_2 em plantas C_4 apresenta uma exigência quântica (número de fótons) maior do que a de uma planta C_3 , em condição atmosférica normal.

A regulação do ciclo C_4

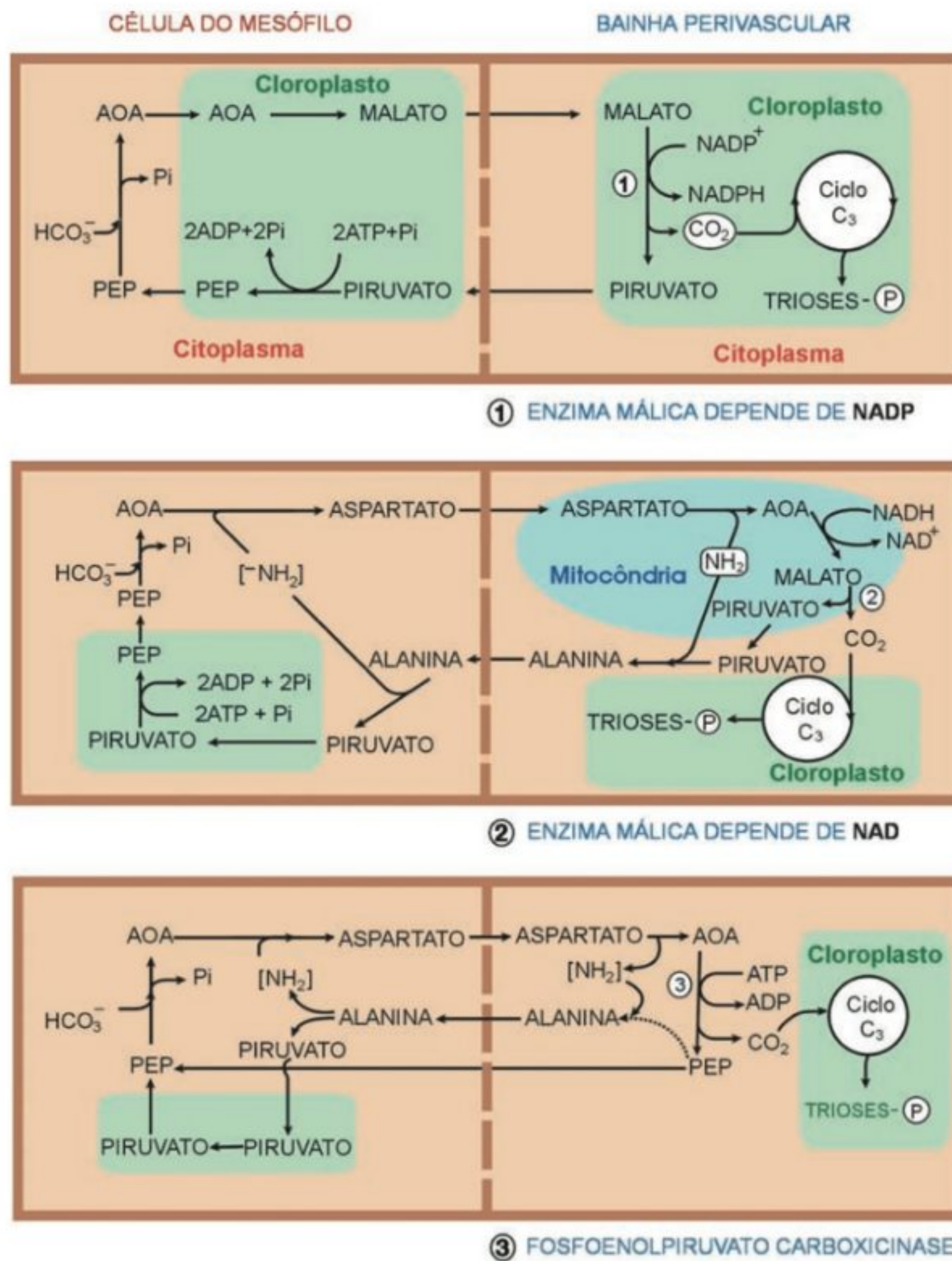
A operação do ciclo C_4 exige uma complexa regulação. Além de envolver vários compostos intermediários que transitam entre os dois tipos de células fotossintéticas, o funcionamento do ciclo C_4 precisa ser coordenado com o ciclo C_3 .

Da mesma forma que o ciclo C_3 , certas enzimas-chave do ciclo C_4 são reguladas pela luz. Além de induzir a expressão de genes envolvidos no ciclo C_4 , a luz promove alterações na estrutura das proteínas já sintetizadas, modificando a sua atividade

catalítica. A enzima málica dependente de NADP (equação [17]) está sujeita ao controle redox pelo sistema tioredoxina, sendo inativa no escuro. A piruvato fosfato dicinase (equação [20]) é regulada por um mecanismo de fosforilação/desfosforilação catalisado por uma única proteína reguladora. A fosforilação reduz a atividade da enzima, sendo o mecanismo controlado pelos níveis de ATP e Pi (fosforilação) e de AMP e PPi (desfosforilação). A PEP carboxilase é uma enzima *regulada alostericamente* que responde à transição claro/escuro (Leegood, 1993). As propriedades reguladoras da PEPcase serão abordadas mais adiante.

MECANISMO MAC (METABOLISMO ÁCIDO DAS CRASSULÁCEAS)

A via MAC (CAM, do inglês *Crassulacean acid metabolism*) é um mecanismo fotossintético concentrador de CO_2 selecionado em resposta à aridez de ambientes terrestres e à limitação na disponibilidade de CO_2 em ambientes aquáticos (Keely, 1998). Períodos de seca podem ocorrer devido a uma condição climática (desertos, semi-áridos), à inconstância no suprimento de água ou, mesmo, à salinidade excessiva em determinado hábitat. Já a limitação de CO_2 , em ambientes aquáticos, deve-se à elevada resistência difusiva da água ao CO_2 (10^4 vezes maior que a da

**FIGURA 5.39**

Esquema das três vias de descarboxilação de moléculas C₄ nas células da bainha perivascular. O CO₂ liberado é imediatamente fixado pela rubisco.

atmosfera) e à competição diurna pelo CO₂ disponível entre os organismos fotossintetizantes aquáticos.

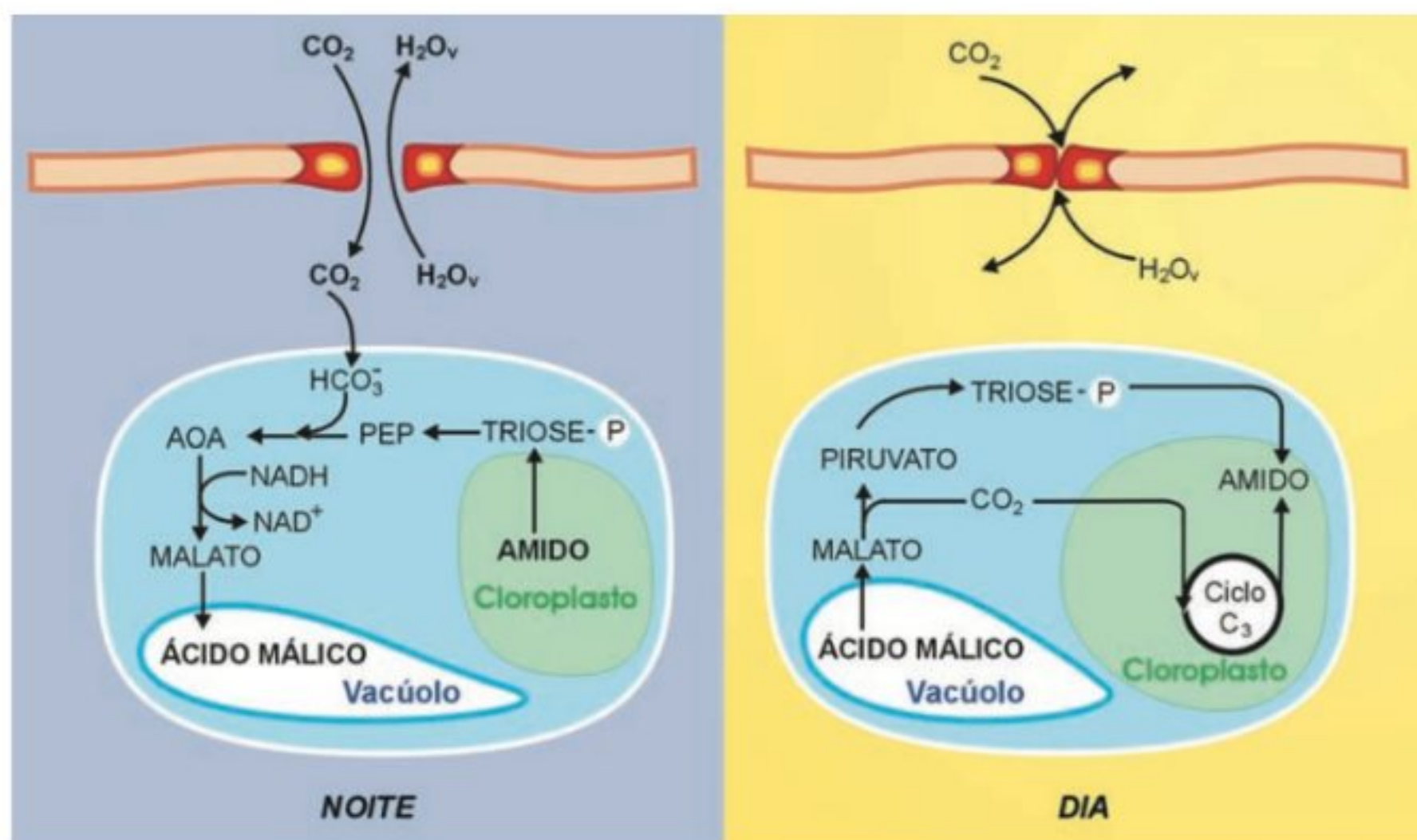
Até o momento, a via MAC foi encontrada em 26 famílias de angiospermas, em 38 espécies de pteridófitas aquáticas pertencentes ao gênero *Isoetes* (Lycophyta), em duas espécies de pteridófitas terrestres (epífitas) e em uma família de gimnosperma. Pesquisas em curso indicam que todas as espécies aquáticas do gênero *Isoetes* seriam MAC. Assim, estima-se que 6% da flora aquática e 8% das espécies terrestres apresentem metabolismo MAC (Keeley, 1998).

Provavelmente, todas as espécies de Cactáceas e de Crassuláceas possuem metabolismo MAC, exclusivamente. Nas outras famílias, são encontradas espécies C₃, MAC obrigatórias e facultativas. As plantas MAC facultativas são aquelas que apresentam

o metabolismo MAC em determinadas condições ambientais. Em condições favoráveis, as MAC facultativas apresentam metabolismo do tipo C₃. Bromeliáceas e Orquídeas epífitas de ecossistemas áridos ou de florestas tropicais apresentam numerosos representantes com metabolismo MAC. Cerca de 50% das plantas MAC conhecidas são epífitas. O abacaxi (Bromeliácea) e o agave são exemplos de plantas cultivadas com metabolismo MAC. A ampla distribuição taxonômica e ecológica das plantas MAC sugere que esse mecanismo também teria surgido muitas vezes no curso da evolução (Leegood, 1993).

A via bioquímica MAC

As plantas MAC são caracterizadas pela fixação maciça de CO₂ no período noturno. O mecanismo MAC fundamenta-se

**FIGURA 5.40**

Esquema representativo do metabolismo ácido das crassuláceas (MAC), mostrando a separação temporal entre a fixação do CO₂ atmosférico pela PEP carboxilase (noturna) e a fixação de CO₂ pelo ciclo de Calvin (diurna). A fixação noturna de CO₂ leva ao acúmulo de malato no vacúolo. Durante o dia, o malato é descarboxilado, fornecendo CO₂ para o ciclo de Calvin. (Leegood, 1983, modificado.)

num processo de *carboxilação* (noturna) seguido de uma *etapa de descarboxilação* (diurna), esta última responsável pelo suprimento de CO₂ para o ciclo C₃. As espécies MAC terrestres abrem os estômatos durante a noite e os mantêm fechados durante o dia, contrariamente ao que ocorre com a maioria das plantas terrestres.

A fixação noturna do CO₂ também é catalisada por uma isoforma da PEPcase. O CO₂ fixado é acumulado nos vacúolos na forma de malato (Fig. 5.40). Por esse motivo, durante a noite, a acidez celular vai aumentando progressivamente. Durante o dia, os estômatos se fecham, mas o CO₂ para o ciclo C₃ passa a ser fornecido pela descarboxilação do malato. Ao longo do dia, devido ao consumo do malato, o pH dos vacúolos das células fotossintéticas aumenta progressivamente. À noite, o amido é hidrolisado para a geração de PEP, acumulando-se durante o dia como produto da fotossíntese e da descarboxilação do malato.

Deve-se ressaltar que o mecanismo bioquímico de carboxilação das plantas MAC e C₄ é o mesmo, diferenciando-se quanto à sua regulação. Nas plantas C₄, há uma separação espacial (anatômica) entre a carboxilação pela PEPcase e o ciclo C₃, processos que transcorrem simultaneamente. Já nas plantas MAC, a separação desses eventos é apenas temporal, ocorrendo na mesma célula fotossintética. A fixação do CO₂ atmosférico pela PEPcase se processa à noite, enquanto a fixação de CO₂ pelo ciclo de C₃ ocorre durante o dia.

O mecanismo MAC e a sobrevivência das plantas

O mecanismo MAC aumenta extraordinariamente a *eficiência de uso da água* (EUA), sendo encontrado em plantas adaptadas a ambientes áridos ou sujeitos ao suprimento de água apenas perío-

dico. A fixação noturna de CO₂ tem como resultado a diminuição da perda de água porque a diferença de pressão de vapor da água entre as folhas e a atmosfera atinge valores mínimos durante a noite. Em regiões desérticas, as diferenças entre as temperaturas diurnas e noturnas são enormes, podendo atingir 20°C. Ao mesmo tempo, a presença de elevadas concentrações de CO₂ no mesófilo foliar de plantas MAC, durante uma parte do período diurno (1%), minimiza a fotorrespiração.

Outra característica impressionante das plantas MAC é a sua extrema flexibilidade metabólica. Em várias espécies, a fotossíntese C₃ ou MAC pode ser induzida por mudanças nas condições ambientais. O advento de uma seca ou o aumento da salinidade induzem o metabolismo MAC em muitas espécies facultativas.

A continuidade da seca por um tempo prolongado pode levar a um fechamento completo dos estômatos. Nessa situação extrema, embora as plantas não apresentem nenhuma troca gasosa com a atmosfera, o seu conteúdo de ácidos orgânicos continua a flutuar ao longo do dia. Isso reflete a reciclagem interna do CO₂ gerado pela respiração e fotorrespiração. Tal reciclagem de CO₂, além de garantir a sobrevivência em condições extremamente secas, evita a fotoinibição e permite que a planta responda imediatamente ao retorno da disponibilidade de água (Leegood, 1993).

Já entre as plantas aquáticas, o mecanismo MAC permite a sobrevivência em ambientes densamente ocupados por fitoplâncton, algas ou outras plantas aquáticas. Nesses ambientes aquáticos, a disponibilidade de CO₂ é extremamente limitante durante o período diurno. A grande vantagem das plantas dotadas de mecanismo MAC é sua capacidade de utilizar o CO₂ liberado pela respiração noturna de outras plantas e animais que ocupam o seu hábitat.

Algumas espécies anfíbias são capazes de exibir metabolismo MAC enquanto o desenvolvimento se dá sob a água. Mas, diante da exposição ao ambiente aéreo, os tecidos fotossintéticos, em contato com a atmosfera, passam a apresentar, exclusivamente, a via C_3 . A mesma planta pode, portanto, apresentar simultaneamente as vias MAC e C_3 . Em outras espécies, os metabolismos C_3 e MAC se sucedem ao longo do ciclo de vida da planta (Keeley, 1998).

A PEP CARBOXILASE

A PEP carboxilase é uma enzima citossólica que se distribui universalmente em **todas** as células vegetais. Porém, nas plantas C_4 e MAC, a PEPcase assume um papel destacado e especial na fotossíntese. Nas folhas das plantas C_4 , a *atividade* da PEPcase pode atingir valores *centenas de vezes maiores* do que os valores encontrados nas folhas das plantas C_3 ou nos demais tecidos da própria planta C_4 . Como várias outras enzimas, a PEPcase ocorre sob a forma de várias isoenzimas, cada uma delas codificada por um gene diferente e sujeita a uma regulação diferenciada (Leegood, 1993).

Uma característica crucial da PEPcase, quando comparada à rubisco, é a de que essa enzima atua apenas como carboxilase. Além disso, a afinidade da PEPcase pelo HCO_3^- é mais elevada do que a afinidade da rubisco pelo CO_2 . Enquanto o $K_m(\text{CO}_2)$ da rubisco das plantas C_3 situa-se na faixa de 15 a 25 μM , o $K_m(\text{HCO}_3^-)$ da PEPcase situa-se em torno de 8 μM (Moroney & Somanchi, 1999). Ou seja, a PEPcase é uma enzima carboxilativa mais eficiente do que a rubisco, podendo carboxilar ainda que a disponibilidade de CO_2 seja muito baixa, o que não acontece com a rubisco.

Regulação da PEPcase

A PEPcase é uma enzima alostérica sujeita a *ativação* pela glicose-6-fosfato, pelas trioses-P, e a *inibição* pelo L-malato. Essas características indicam que flutuações na concentração desses compostos no citoplasma regulam a atividade da PEPcase. Nas plantas C_4 , a PEPcase também é regulada pela transição luz-escuro. O mecanismo de modulação da PEPcase pela luz envolve modificações das enzimas que afetam, principalmente, as suas propriedades alostéricas. Em presença de luz, a PEPcase das plantas C_4 é *fosforilada* pela ação catalítica de uma enzima *cinase* solúvel. A fosforilação torna a PEPcase menos sensível ao efeito inibitório do malato e, portanto, mais ativa durante o período diurno (Cholet *et al.*, 1996). No caso das plantas MAC, o grau de fosforilação da PEPcase é, portanto, a sensibilidade ao malato; é controlado pelo ritmo circadiano endógeno das plantas, e não pela luz. Estudos sobre a variação da atividade diária da PEPcase, extraída da planta MAC *Bryophyllum*, mostraram que a PEPcase é 10 vezes mais sensível ao malato durante o período luminoso do que quando extraída das plantas durante do período escuro. Verificou-se, ainda, que, ao contrário das plantas C_4 , a forma noturna era fosforilada e que a forma diurna era desfosforilada (Fig. 5.41; Nimmo *et al.*, 1995).

De modo generalizado, enquanto a fosforilação reversível de proteínas é catalisada por vários tipos de proteína cinase, a desfosforilação é catalisada por *fosfatases*. O estado de fosforilação de uma proteína *in vivo* depende, assim, do balanço entre as atividades de cinases e fosfatases, podendo ser regulado por mudanças na atividade de ambas as enzimas ou na atividade apenas de uma delas (cinase ou fosfatase). Em *Bryophyllum*, o principal fator determinante do estado de fosforilação da PEPcase é a variação da atividade de uma cinase específica. Nessa planta MAC, tanto a luz como temperaturas elevadas promovem o desaparecimento da PEPcinase, resultando na redução da atividade da PEPcase no período diurno (Nimmo *et al.*, 1995).

O DESTINO DOS PRODUTOS DA FOTOSSÍNTESE

Em todas as plantas, a maior parte do carbono fixado na fotossíntese é utilizada para a formação de carboidratos, principalmente *sacarose* e *amido*, que são os produtos mais estáveis do processo fotossintético (Fig. 5.24).

Os carboidratos são moléculas extremamente importantes para as plantas. Além de fornecerem energia para o processo respiratório e esqueletos de carbono para a síntese das demais biomoléculas, os carboidratos também constituem um importante componente estrutural do organismo das plantas. A maior parte da matéria seca das plantas é formada por constituintes da parede celular, a qual é, majoritariamente, constituída de celulose, um polímero de glicose. Entretanto, é importante destacar que uma parte da energia luminosa absorvida pelos cloroplastos é diretamente utilizada em outros processos bioquímicos, entre os quais a assimilação de NO_3^- e SO_4^- e a biossíntese de aminoácidos (Fig. 5.4).

Parte dos carboidratos gerados na fotossíntese (*fotoassimilados*) é utilizada para satisfazer as necessidades biossintéticas das células foliares, fluindo para o metabolismo respiratório, para o metabolismo do nitrogênio e outras biossínteses. A parcela excedente de carboidratos pode ser exportada das células fotossintéticas na forma de sacarose, ou ser armazenada no próprio cloroplasto na forma de amido (Fig. 5.42). O destino do carbono nos tecidos fotossintéticos depende, portanto, do estágio de desenvolvimento foliar. Folhas imaturas retêm grande parte dos fotoassimilados para a síntese de seus constituintes celulares (lipídios, ácidos nucléicos, aminoácidos, proteínas, celulose etc.), podendo inclusive importar fotoassimilados de outras partes da planta. Em folhas maduras, ao contrário, grande parte dos fotoassimilados é exportada através do floema para outras regiões da planta (*fontes*).

Durante o período luminoso, o amido acumula-se no estroma dos cloroplastos na forma de grânulos, ao passo que, durante a noite, o amido é remobilizado e consumido na respiração. Na maioria das plantas, a sacarose é a principal forma de transporte e distribuição dos fotoassimilados para as regiões consumidoras (*drenos*), representadas pelas raízes, ápices caulinares, folhas imaturas e órgãos de reserva em formação (frutos, sementes, tubérculos). A sacarose é sintetizada no citosol das células fotossintéticas. Algumas plantas, tais como a soja, o espinafre e

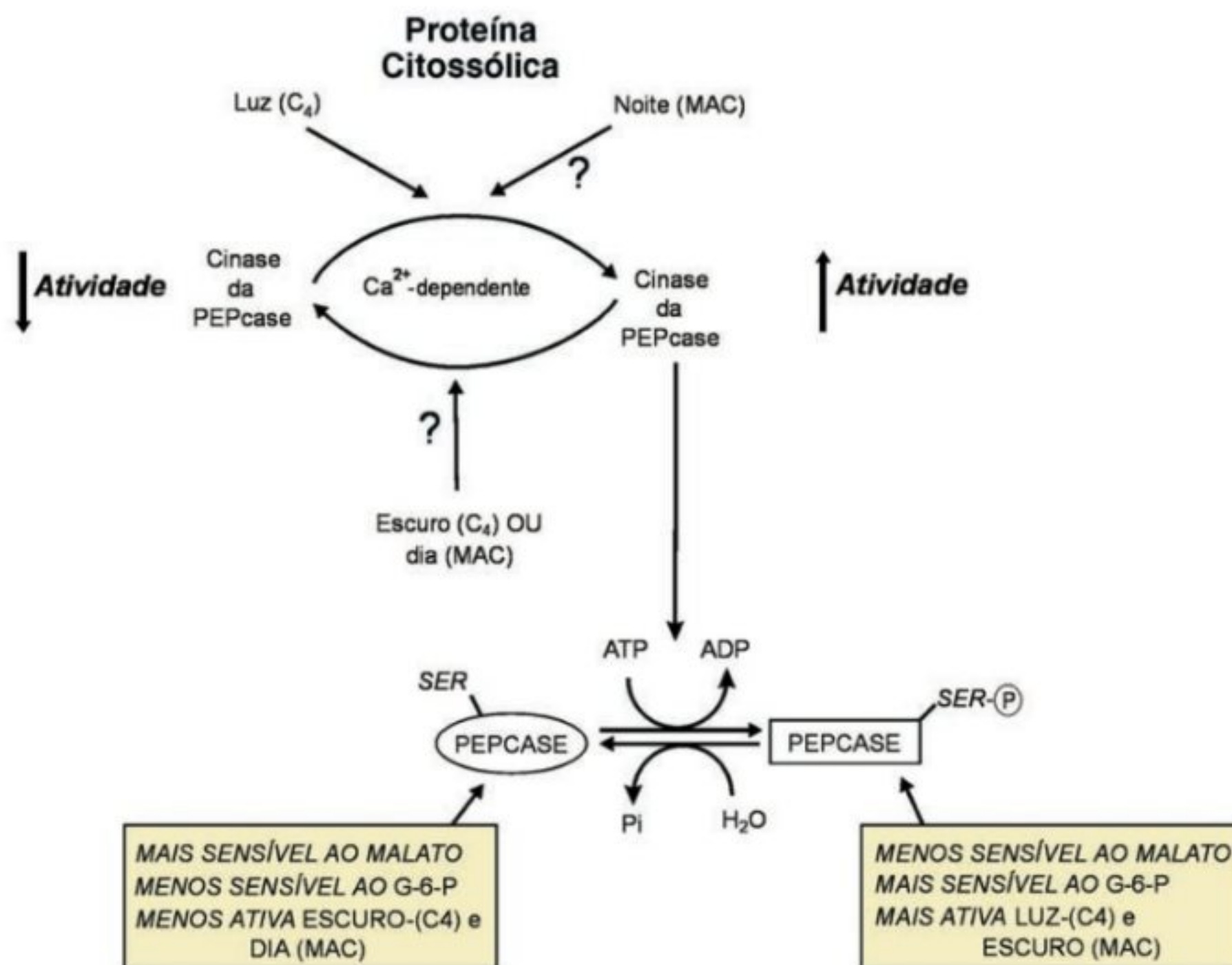


FIGURA 5.41

Modelo de mecanismo molecular proposto para a regulação da atividade da PEP carboxilase em plantas C_4 (diurna) e MAC (noturna). A luz em plantas C_4 e um sinal noturno ainda desconhecido em plantas MAC ativam uma cinase da PEP carboxilase. Essa cinase, ao fosforilar a PEP carboxilase, aumenta a sua atividade. (Cholet *et al.*, 1996, modificado.)

o tabaco, armazenam o excesso de fotoassimilados como amido nos cloroplastos. Porém, plantas como o milho, a aveia e a cevada armazenam, temporariamente, grande parte dos carboidratos excedentes no interior dos vacúolos na forma de sacarose, acumulando pouco amido. Na cana-de-açúcar e na beterraba, a sacarose constitui uma reserva de longo prazo.

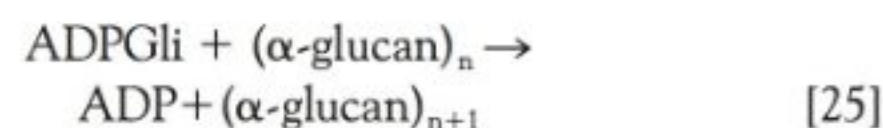
Síntese de amido nos cloroplastos

O amido é o principal carboidrato de reserva das plantas superiores, existindo em duas formas – amilose e amilopectina (Fig. 5.42A). A *amilose* é um polímero linear da glicose gerado pela ligação entre o primeiro e o quarto carbonos de duas moléculas de glicose (ligação α -1,4). A *amilopectina* é semelhante à amilose, mas apresenta ligações do tipo α -1,6 a cada 24-30 resíduos de glicose, o que origina uma molécula ramificada.

A acumulação de amido nas folhas é um processo dinâmico. Quando velocidade de síntese de açúcares-fosfato, nos cloroplastos, excede a sua capacidade de exportação para o citoplasma, a síntese do amido é intensificada. A *frutose-6-fosfato* (Fru-6-F) é o composto intermediário do ciclo C_3 que dá início à síntese de amido nas células fotossintéticas. Atuando sucessivamente, as enzimas *glicose-6-fosfato isomerase* (equação [22]) e *fosfoglicomutase* (equação [23]) interconvertem a Fru-6-F em *glicose-6-fosfato* (Gli-6-F), e esta última, em *glicose-1-fosfato* (Gli-1-F), molécula precursora da síntese do amido (Fig. 5.43).



Nas células fotossintéticas, a rota predominante na síntese de amido é a constituída pela via que utiliza a *ADP-glicose* (ADPGli), proveniente da Gli-1-F. A via de síntese de amido envolve três reações enzimáticas, catalisadas pela *ADP-glicose pirofosforilase* (equação [24]) (também chamada de *ADP-glicose sintase*), pela *amido sintase* (equação [25]) e uma *pirofosforilase* (equação [26]), conforme indicado a seguir, respectivamente:



A ADP-glicose pirofosforilase (equação [24]) catalisa a síntese de ADPGli e PPi a partir da Gli-1-F e ATP. Estudos conduzidos em diferentes espécies revelam que a ADP-glicose pirofosforilase é uma enzima reguladora chave da síntese de amido, sendo alostERICAMENTE *ativada* pelo ácido 3-fosfoglicérico (3PGA) e *inibida* pelo fosfato inorgânico (Pi). Dependendo da espécie e do pH, o 3PGA pode aumentar a atividade da ADP-glicose pirofosforilase

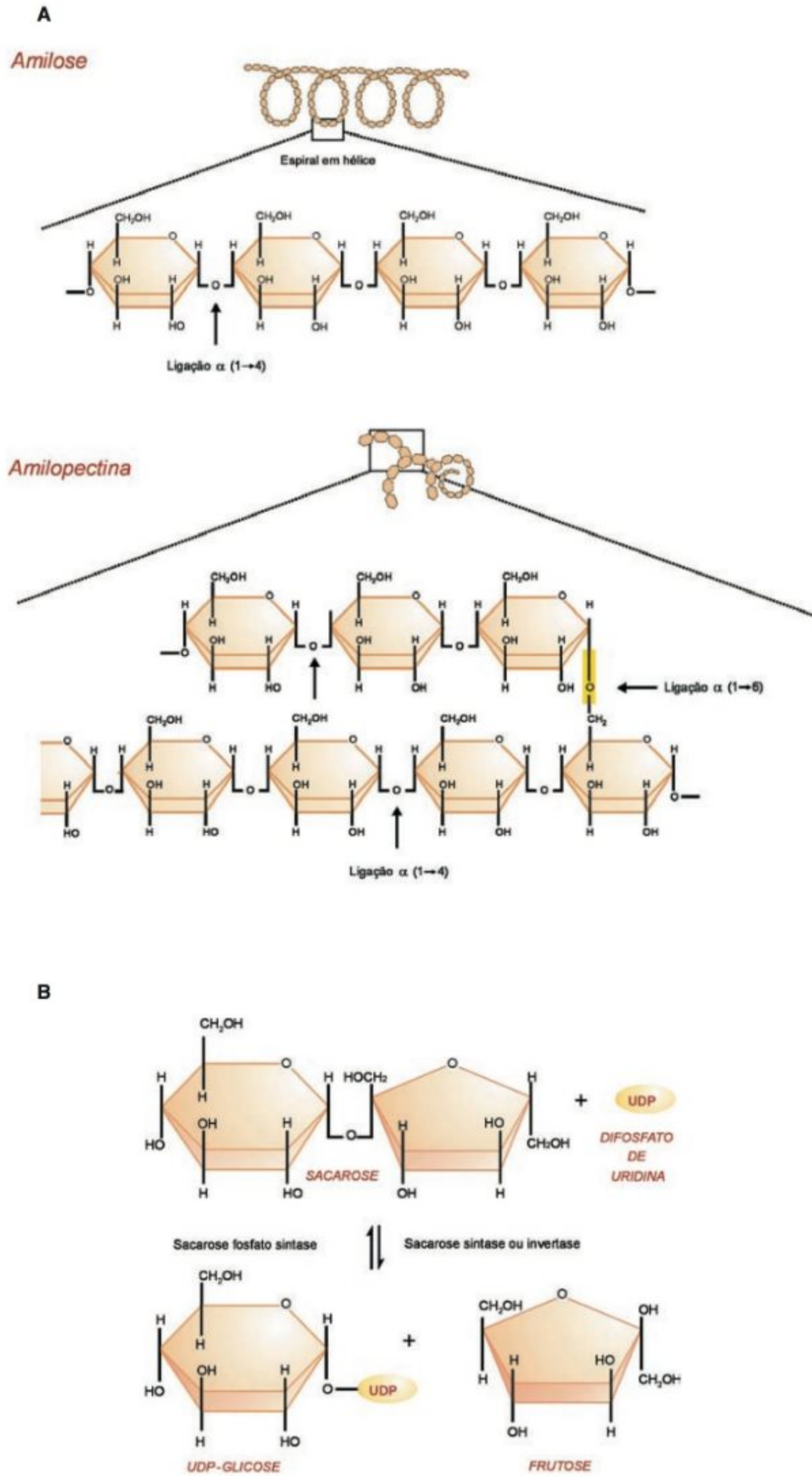


FIGURA 5.42

Estrutura da molécula de amido (A) e de sacarose (B).

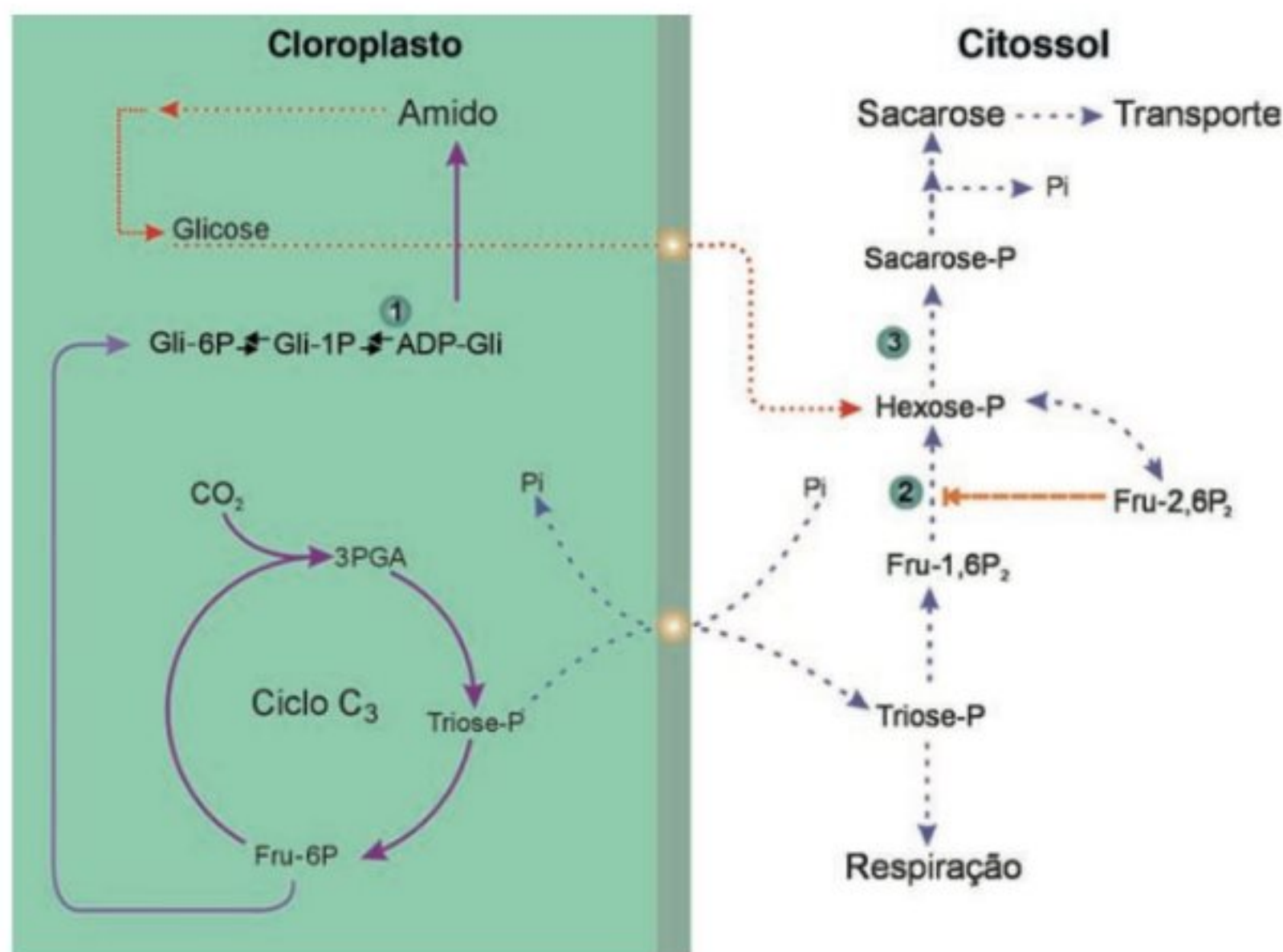


FIGURA 5.43

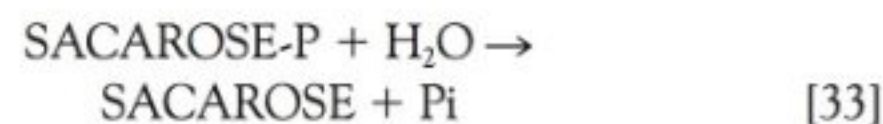
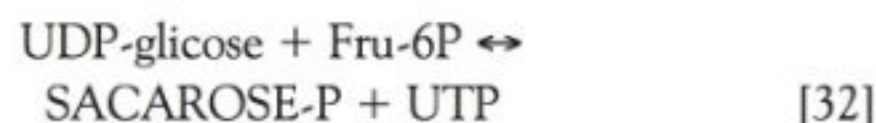
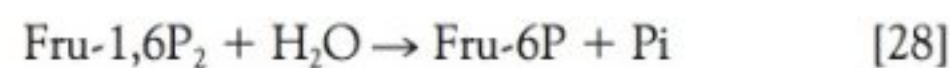
Diagrama do fluxo de carbono nas células fotossintéticas. As linhas sólidas indicam as reações que ocorrem no período luminoso, e as linhas pontilhadas, as reações que ocorrem predominantemente no escuro. As linhas tracejadas indicam os processos que ocorrem ao longo de 24 horas. (1) ADP-glicose pirofosforilase; (2) frutose-1,6-bisfosfatase; (3) sacarose fosfato sintase – SPS.

entre 5 e 100 vezes. Uma taxa de fotossíntese intensa eleva os níveis de 3PGA e diminui as concentrações de Pi nos cloroplastos devido à fotofosforilação. Assim, a elevação da razão 3PGA/Pi, nos momentos de intensa fotossíntese, ativa a ADP-glicose pirofosforilase, canalizando os crescentes níveis de açúcares-fosfato em direção à síntese de amido. A pirofosforilase (equação [26]) favorece a síntese de amido porque desloca o equilíbrio da reação catalisada pela ADP-glicose pirofosforilase no sentido da síntese de ADPGli. Em resumo, o metabolismo do amido é governado pelas concentrações de metabólitos no interior dos cloroplastos (níveis de 3PGA e Pi), sendo assim diretamente dependente das taxas de fotossíntese.

Síntese de sacarose no citoplasma

A sacarose é um dissacarídeo constituído por um resíduo de glicose e um resíduo de frutose (ligação α -1,2; Fig. 5.42B). Nos tecidos fotossintéticos, a sacarose é derivada das trioses-fosfato sintetizadas no ciclo C_3 e exportadas do cloroplasto para o citoplasma através de um *transportador de Pi/triose-P* (Figs. 5.24 e 5.43). No citoplasma, as trioses-P (diidroxiacetona – DHAP e gliceraldeído-3-fosfato – 3PGald) são convertidas em frutose-1,6-bisfosfato (Fru-1,6P₂) pela ação da Fru-1,6F₂ aldolase (equação [27]). Na sequência a Fru-1,6P₂ é hidrolisada pela enzima *frutose-1,6-bisfosfatase* (equação [28]) (*FBPase*), originando a *frutose-6-P* (Fru-6P). Esta última molécula pode ser convertida em glicose-6-fosfato (Gli-6P) por uma *fosfoglicoisomerase* (equação [29]) e, a seguir, em glicose-1-fosfato (Gli-1P) por uma *fosfoglicomutase* (equação [30]). A glicose-1P é utilizada para formar *UDP-glicose*

(equação [31]). A síntese de sacarose-fosfato, por sua vez, é catalisada pela enzima *sacarose-fosfato sintase* (SPS), tendo como substratos a UDP-glicose e a Fru-6P (equação [32]). Ao ser formada, a sacarose-fosfato é hidrolisada através da *sacarose-fosfato fosfatase*, gerando sacarose e Pi (equação [33]). A sacarose é então transferida para o floema e transportada das folhas para os órgãos-dreno (Maffei, 1999).



A síntese de sacarose é controlada de modo mais independente das taxas fotossintéticas do que a síntese do amido. Diferentes estudos têm mostrado que a síntese de amido pode ser afetada por alterações na síntese de sacarose, enquanto o inverso não é neces-

sariamente verdadeiro. A regulação da síntese de sacarose nos tecidos fotossintéticos deve ser sincronizada com a permanente, mas variável, exportação de assimilados. Entretanto, o controle da síntese de sacarose também é essencial para a manutenção da própria eficiência fotossintética. Se, em função das demandas do crescimento, a síntese de sacarose excedesse a taxa de assimilação de CO_2 , o consumo de trioses-P reduziria a disponibilidade de compostos intermediários no ciclo C_3 . Tal situação poderia comprometer a capacidade de regeneração da RuBP, inibindo seriamente a fotossíntese. Diversos mecanismos reguladores da síntese de sacarose são conhecidos, atuando principalmente sobre a FBPase (equação [28]) e sobre a SPS (equação [32]).

A FBPase citossólica catalisa a primeira reação irreversível da via de síntese da sacarose, sendo intensamente inibida por uma molécula sinalizadora específica denominada *frutose-2,6-bisfosfato*, um análogo do seu substrato natural, a *frutose-1,6-bisfosfato*. A FBPase exerce um papel fundamental no controle da alocação de carbono entre a sacarose e o amido, conforme veremos adiante.

A SPS determina a capacidade máxima de síntese de sacarose nas células fotossintéticas. A atividade dessa enzima está sujeita a um mecanismo de controle “fino” e a um mecanismo de controle “grosso”. O controle fino é constituído pela modulação alostérica executada por efetores metabólicos que modificam as propriedades cinéticas da enzima. Enquanto a glicose-6P ativa a SPS, o fosfato inorgânico (Pi) atua como inibidor. O controle grosso da SPS é decorrente de um mecanismo de fosforilação/desfosforilação da SPS conduzido por cinases e fosfatases. A fosforilação da SPS reduz a atividade da enzima por torná-la mais sensível ao efeito inibitório do Pi.

Vários fatores ambientais e metabólicos influenciam a atividade da SPS, destacando-se dentre eles a luz, a disponibilidade de CO_2 , a nutrição nitrogenada e o acúmulo de carboidratos. O processo de fosforilação/desfosforilação da SPS é responsável pela modulação da enzima na transição claro/escuro e durante o processo de coordenação entre o metabolismo do carbono e do nitrogênio. A SPS é um ponto de controle importante na alocação de carbono entre a síntese de sacarose (metabolismo do carbono) e a síntese de aminoácidos (metabolismo do nitrogênio; Foyer *et al.*, 1995).

Controle da alocação de carbono entre sacarose e amido

A regulação da FBPase é um fator crítico na alocação de carbono entre sacarose e amido, apresentando aspectos bastante peculiares. Enquanto a Fru-1,6P, substrato da FBPase, ocorre em concentrações celulares que variam entre 1 e 10 mM, a Fru-2,6P, molécula reguladora, não supera 10 μM . A Fru-2,6P é um potente inibidor da FBPase. Isso significa que pequenas oscilações na concentração da Fru-2,6P têm repercussões significativas sobre a atividade da FBPase e, conseqüentemente, sobre o fluxo de carbono em direção à síntese de sacarose (Maffei, 1999).

A concentração da Fru-2,6P é dependente da ação de uma cinase e de uma fosfatase específicas. A cinase fosforila a Fru-6P

na posição 2, enquanto a fosfatase catalisa a remoção do grupo fosfato da posição 2, gerando novamente Fru-6P (Fig. 5.42). A cinase é intensamente ativada pelo Pi e pela Fru-6P e fortemente inibida pela diidroxiacetona e pelo 3PGA. Os mesmos ativadores da cinase são potentes inibidores da fosfatase. A intensa atividade do transportador Pi/triose-P, decorrente de uma elevada taxa de assimilação de CO_2 , eleva a concentração de trioses-P e diminui a concentração de Pi no citoplasma. Tal condição inibe a cinase e favorece a ação da fosfatase que atua sobre a Fru-2,6P, diminuindo a sua concentração e, assim, aumentando a atividade da FBPase. De modo inverso, quando a taxa de fotossíntese diminui, os níveis citoplasmáticos de trioses-P se reduzem, enquanto os níveis de Pi se elevam, promovendo a síntese de Fru-2,6P e a inibição da FBPase, tendo como resultado a diminuição da síntese de sacarose. Nas células fotossintéticas, o controle do fluxo de trioses-P e Pi entre os cloroplastos e o citoplasma desempenha um papel fundamental sobre a regulação do fluxo de carbono em direção à sacarose ou amido.

Sabe-se que a remoção de drenos (frutos, flores, tubérculos) reduz a demanda por fotoassimilados e resulta na acumulação de amido nas folhas. Por outro lado, a diminuição da intensidade luminosa reduz a taxa de exportação de sacarose das células fotossintéticas, levando à acumulação de compostos intermediários nos cloroplastos, como a Fru-6P e trioses-P. A acumulação de açúcares-fosfato é acompanhada de uma redução da concentração de Pi no interior dos cloroplastos. A elevação da concentração de intermediários do ciclo C_3 e a redução dos níveis de Pi no interior dos cloroplastos contribuem para a ativação da ADP-glicose pirofosforilase (equação [24]). Todos esses dados indicam que a síntese de amido nos cloroplastos, a exportação de trioses-P dos cloroplastos e a síntese de sacarose no citoplasma encontram-se em delicado equilíbrio. Tal equilíbrio é modulado por mudanças sutis nos níveis de trioses-P e Pi e pela precisa regulação de enzimas-chave, dependendo da estreita comunicação entre os cloroplastos e o citoplasma.

Informações complementares sobre o transporte de fotoassimilados no floema, a partir das células fotossintéticas, para as diferentes partes da planta são encontradas no Cap. 6 (Transporte no Floema). A utilização dos carboidratos para extração de energia metabólica e geração de novos compostos orgânicos para biossínteses é encontrada no Cap. 7 (Respiração).

ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS ASSOCIADOS À FOTOSSÍNTESE

Vivendo em comunidades, freqüentemente as plantas são levadas a competir entre si por recursos essenciais, como, por exemplo, luz, água e nutrientes minerais. Ao mesmo tempo, precisam otimizar o uso dos recursos disponíveis, muitas vezes limitados e variáveis quanto à sua disponibilidade.

Os mecanismos fotossintéticos C_3 , C_4 e MAC estão associados a características fisiológicas que repercutem não só sobre a eficiência fotossintética, mas também sobre o desempenho das plantas em diferentes condições ambientais. Cada um desses mecanismos

fotossintéticos tem implicações ecológicas significativas e foi selecionado, ao longo do processo evolutivo, por conferir vantagens adaptativas especiais em condições ambientais diversas.

A maioria das espécies C_4 têm o seu centro de origem na zona tropical, sendo mais abundantes em ambientes quentes, secos e bem iluminados. Grande parte das plantas invasoras mais agressivas apresenta metabolismo C_4 . Já as espécies C_3 tendem a predominar nas zonas temperadas, em regiões mais frias, bem como em comunidades vegetais onde existe auto-sombreamento (p. ex., florestas tropicais). Isso significa que, numa sucessão ecológica, as espécies C_4 tendem a ocorrer com grande frequência durante as etapas iniciais (espécies pioneiras), sendo paulatinamente substituídas por espécies C_3 à medida que os níveis de sombreamento da comunidade vegetal aumentam.

As respostas diferenciadas das plantas C_3 , C_4 e MAC à variação da intensidade luminosa, à variação da concentração intrafoliar de CO_2 , à temperatura e à disponibilidade de água e nitrogênio permitem compreender, parcialmente, o sucesso de cada tipo fotossintético em situações ambientais diversas (Lawlor, 1987). Por outro lado, ao se estudar o efeito de fatores ambientais sobre a fotossíntese, é preciso ter em mente que a fotossíntese foliar depende das taxas de:

1. Suprimento de CO_2 ao sítio ativo da rubisco.
2. Síntese de NADPH e de ATP (função das reações fotoquímicas e da disponibilidade de luz).
3. Carboxilação da RuBP, dependente das taxas relativas entre a atividade carboxilase e a atividade oxigenase da rubisco.
4. Síntese de RuBP, controlada pelo ciclo C_3 .

Nesta seção, analisaremos a variação quantitativa da fotossíntese em plantas C_3 , C_4 e MAC em função de algumas variáveis ambientais e fisiológicas importantes, bem como o seu significado ecofisiológico. Comentaremos, brevemente, as interações da fotossíntese e de outros processos com a produtividade de comunidades vegetais.

Fotossíntese líquida (F_L)

Medidas da absorção de CO_2 em folhas, plantas ou comunidades vegetais fornecem informações diretas e precisas sobre as *taxas fotossintéticas de assimilação de CO_2* . Essas medidas também são frequentemente denominadas *fotossíntese líquida (F_L)*. A maior parte das medidas de trocas de CO_2 são desenvolvidas em ambientes fechados, ou seja, folhas, plantas ou grupo de plantas são estudados em câmaras transparentes, fechadas e com atmosfera controlada e monitorada. As taxas de fotossíntese líquida do material em estudo são determinadas pela medida das mudanças na concentração de CO_2 do ar que circula, em fluxo forçado, através da câmara transparente (Fig. 5.44). O aparelho que detecta continuamente as variações da concentração do CO_2 do ar que flui através da câmara é conhecido como IRGA (do inglês *infra-red gas analyser*, ou analisador de infravermelho em fase gasosa). A determinação quantitativa de CO_2 pela análise da absorção do infravermelho é o método contemporâneo mais

utilizado para determinar as taxas fotossintéticas e respiratórias de plantas (Long & Hälgren, 1993).

Se, por exemplo, a folha ou planta em estudo estiver fazendo fotossíntese, a concentração de CO_2 do sistema diminuirá. Caso não haja reposição de CO_2 absorvido, sua concentração continuará declinando até atingir o *ponto de compensação de CO_2* da fotossíntese (Γ). Quando essa concentração de CO_2 é alcançada, a *taxa de fotossíntese bruta (F_{BR})* se iguala à taxa de respiração (R) somada à taxa de fotorrespiração (FR). Portanto, o ponto de compensação de CO_2 (Γ) é atingido no momento em que a fotossíntese líquida (F_L) é igual a zero:

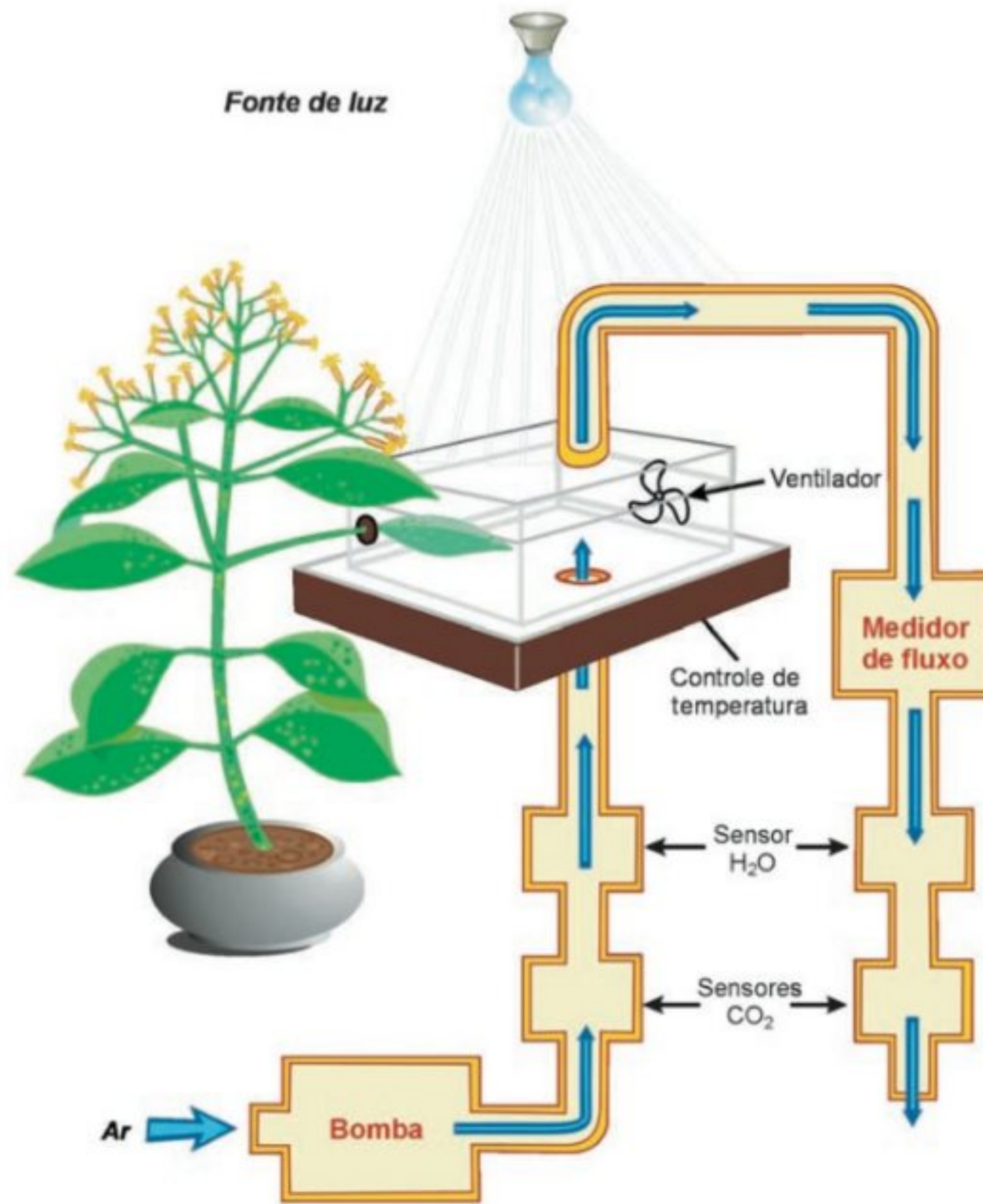
$$F_L = F_{BR} - (R + FR) \quad [34]$$

A fotossíntese bruta (F_{BR}) corresponde à capacidade carboxilativa total das folhas em determinada condição, sendo responsável pela retirada de CO_2 do ar e formação dos carboidratos (ciclo C_3). Em condições fotossintéticas estabilizadas e em atmosfera normal (presença de $^{12}CO_2$), a F_{BR} pode ser estimada através da determinação da assimilação de $^{14}CO_2$ durante os primeiros segundos de uma exposição das folhas ao radiotraçador (Lawlor, 1987). Os processos de respiração e a fotorrespiração das células fotossintéticas, por sua vez, liberam CO_2 para o ambiente. Portanto, a F_L corresponde à taxa de assimilação de CO_2 que pode ser diretamente medida a partir de um ambiente controlado e é o resultado das taxas relativas de F_{BR} (carboxilação), respiração e fotorrespiração (liberação de CO_2).

Em resumo, concentrações de CO_2 que sustentam uma velocidade de carboxilação apenas igual às perdas de CO_2 por respiração e fotorrespiração produzem uma F_L igual a zero (equação [34]). Essas concentrações de CO_2 que geram F_L igual a zero, denominadas de ponto de compensação de CO_2 , são variáveis com o tipo fotossintético, espécie e com as condições ambientais a que as plantas se encontram submetidas.

Fotossíntese líquida e disponibilidade de CO_2

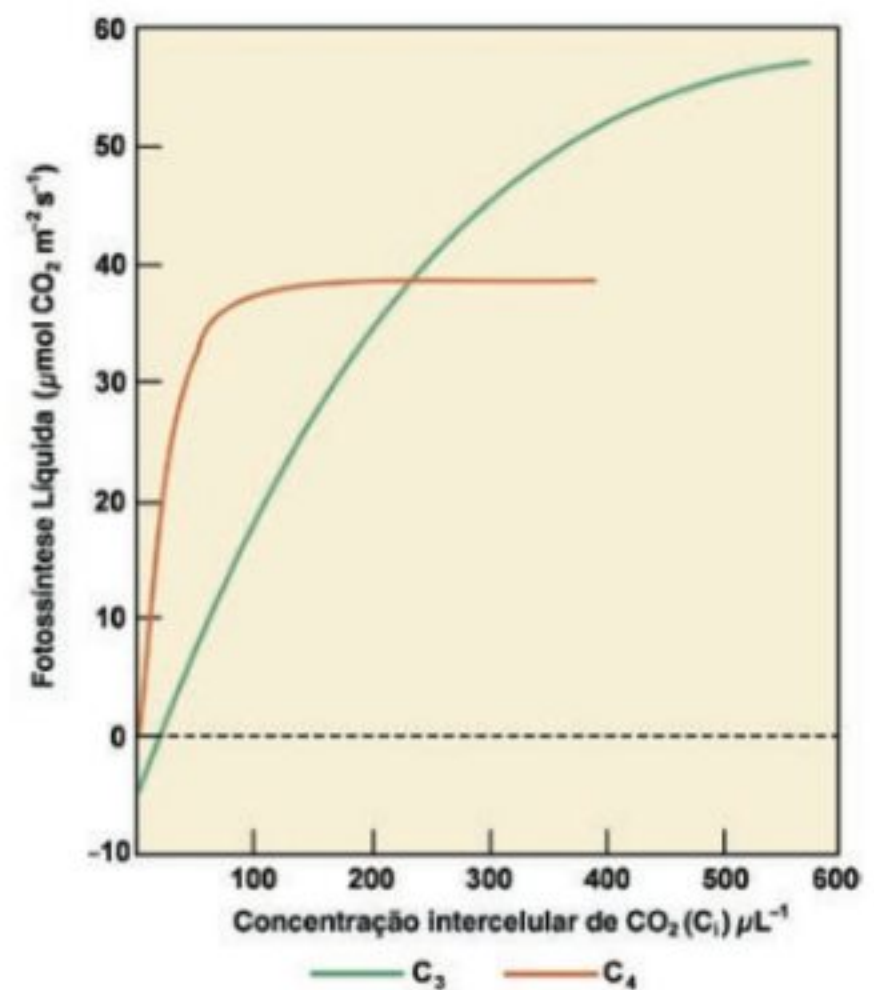
A disponibilidade de CO_2 para a fotossíntese depende da sua difusão da atmosfera para o interior dos espaços aéreos do mesófilo foliar. A partir da atmosfera intrafoliar, ocorre a dissolução e difusão do CO_2 na fase líquida das células, até que o CO_2 encontre as enzimas de carboxilação. Nesse intercâmbio, os estômatos constituem o principal ponto de controle da entrada do CO_2 e, simultaneamente, o principal ponto de controle da perda de água pelas plantas (Fig. 5.6). À medida que a fotossíntese se desenvolve, o CO_2 consumido da atmosfera intrafoliar é repostado pelo CO_2 atmosférico por difusão. No entanto, quando as plantas começam a perder mais água do que podem absorver, tendem a diminuir o grau de abertura dos estômatos, para reduzir a perda de água e manter o seu equilíbrio hídrico. Quanto maior a deficiência hídrica, menor será o grau de abertura dos ostíolos e, conseqüentemente, maior será a resistência à entrada do CO_2 atmosférico. Portanto, durante os momentos diurnos de deficiência hídrica, as concentrações intrafoliares de CO_2 tendem a diminuir drasticamente.

**FIGURA 5.44**

Esquema de dispositivo para a medida das trocas de CO_2 realizadas por folhas iluminadas. O fluxo de ar através da câmara transparente é controlado e monitorado. O IRGA é um equipamento que permite quantificar a concentração de CO_2 . A variação da concentração do CO_2 do ar que entra e deixa a câmara onde a folha realiza suas atividades metabólicas permite estimar a taxa de fotossíntese líquida. (Nobel, 1991, modificado.)

A variação da concentração de CO_2 produz respostas fotossintéticas substancialmente diferentes em plantas C_3 e C_4 . A fotossíntese das plantas C_4 já se encontra saturada com cerca de $100 \mu\text{l l}^{-1}$ de CO_2 nos espaços intercelulares do mesófilo foliar, enquanto, nas plantas C_3 , a saturação é alcançada com $250 \mu\text{l l}^{-1}$ de CO_2 (Fig. 5.45). Isso ocorre devido à elevada eficiência de carboxilação da PEPcase, combinada com a inibição da fotorrespiração promovida pelo mecanismo C_4 de concentração de CO_2 junto ao sítio ativo da rubisco. Esses dados quantitativos explicam por que a assimilação de CO_2 em folhas de plantas C_4 já se encontra saturada na atmosfera normal ($0,036\%$ CO_2 ou $360 \mu\text{l l}^{-1}$ e 21% de O_2) e não é afetada quando se impõe uma variação na concentração externa do O_2 . Em simulações experimentais, entretanto, as taxas de assimilação de CO_2 de plantas C_3 aumentam à medida que a concentração de CO_2 externa supera a concentração atmosférica (Fig. 5.45).

Em plantas C_3 , Γ é fortemente influenciado pelos fatores que alteram a fotorrespiração. Nas plantas C_3 , o Γ normalmente é atingido quando as concentrações intrafoliares de CO_2

**FIGURA 5.45**

Variação da fotossíntese líquida, em função da concentração de CO_2 intrafoliar, em plantas C_3 e C_4 . (Leegood, 1993, modificado.)

situam-se entre 40 e 100 $\mu\text{l l}^{-1}$. Já nas plantas C_4 , o ponto de compensação de CO_2 é inferior a 5 $\mu\text{l l}^{-1}$ (Fig. 5.45). A redução da concentração de O_2 do ar para 2% faz com que o valor do Γ de plantas C_3 caia a ponto de se aproximar dos valores do ponto de compensação de CO_2 das plantas C_4 . Na atmosfera normal, o ponto de compensação de CO_2 das plantas C_3 varia em função da temperatura foliar. A elevação da temperatura foliar em locais intensamente iluminados, ao favorecer a fotorrespiração, promove o aumento do valor do Γ nas plantas C_3 (Leegood, 1993).

Nas plantas MAC, o valor do Γ oscila entre valores extremamente baixos (próximos a zero), durante a fixação noturna de CO_2 , a valores elevados, em torno de 50 $\mu\text{l l}^{-1}$, durante a fase final do período diurno. Tal elevação do Γ dá-se quando as taxas de fixação de CO_2 superam as taxas de descarboxilação do malato, diminuindo assim a concentração interna de CO_2 e, conseqüentemente, favorecendo a fotorrespiração.

Fotossíntese e eficiência no uso da água

Tendo em vista a discussão precedente, podemos concluir que a fotossíntese é freqüentemente limitada pela disponibilidade de água e de CO_2 e que esses dois fatores são interligados. Em comparação com as plantas C_3 , os mecanismos concentradores de CO_2 aumentam significativamente a *eficiência de uso da água* (EUA) das plantas C_4 e MAC. A EUA corresponde à razão entre a quantidade de CO_2 assimilada e a quantidade de água transpirada pela planta:

$$\text{EUA} = \frac{\mu\text{mol CO}_2 \text{ fixado m}^{-2} \text{ s}^{-1}}{\mu\text{mol H}_2\text{O transpirada m}^{-2} \text{ s}^{-1}}$$

ou

$$\text{EUA} = \frac{\text{massa seca produzida (g/kg)}}{\text{de água transpirada}}$$

Nas plantas C_3 , a EUA varia entre 1–3 g $\text{CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$, enquanto, nas plantas C_4 , assume valores entre 2–5 g $\text{CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$ e, nas plantas MAC, valores entre 6–30 g $\text{CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$ (Larcher, 2000). Tais diferenças na EUA encontram-se diretamente relacionadas ao funcionamento diferenciado dos estômatos nos três tipos fotossintéticos.

O baixo ponto de compensação de CO_2 das plantas C_4 ($< 5 \mu\text{l l}^{-1}$) demonstra que elas são capazes de realizar a fotossíntese positiva com uma baixa concentração intercelular de CO_2 . Assim, ainda que a condutância estomática de uma planta C_4 seja muito reduzida, a assimilação de CO_2 pode prosseguir satisfatoriamente, permitindo que as plantas C_4 realizem a fotossíntese com um mínimo de perda de água. As plantas C_3 , ao contrário, têm a sua fotossíntese prontamente limitada à medida que a resistência estomática aumenta (fotossíntese positiva acima de 40 e 100 $\mu\text{l CO}_2 \text{ l}^{-1}$ de ar). Visto que a fotossíntese C_3 exige uma condutância estomática mais elevada (maior grau de abertura dos ostíolos) para manter taxas fotossintéticas positivas, a perda de água pela transpiração tende a ser bem maior do que nas plantas com a via C_4 .

Entre as plantas com fotossíntese MAC, os elevados valores da EUA também estão associados à regulação da abertura estomática e ao mecanismo concentrador de CO_2 . A abertura estomática noturna minimiza as perdas de água por transpiração devido ao baixo gradiente de pressão de vapor entre o mesófilo foliar e a atmosfera. Ao mesmo tempo, a elevada atividade da PEP carboxilase noturna garante a fixação do CO_2 atmosférico, armazenado sob a forma de ácidos orgânicos. Assim, o ciclo C_3 pode funcionar nas plantas MAC, no período luminoso, tendo como substrato o CO_2 liberado internamente pela descarboxilação de ácidos orgânicos, apesar de os estômatos estarem fechados.

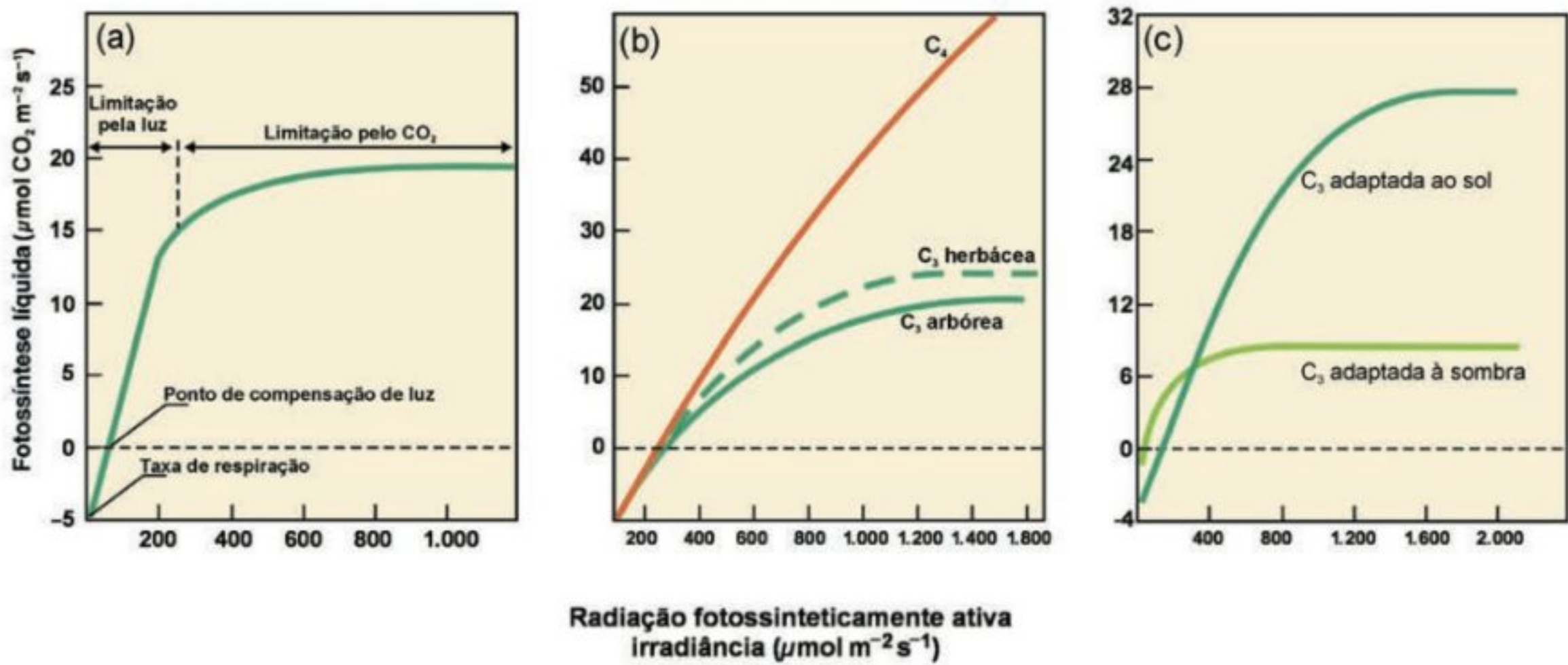
Plantas com fotossíntese MAC e C_4 são, portanto, mais adaptadas a ambientes que apresentam limitações na disponibilidade de água. Isso é possível porque plantas desses grupos fotossintéticos podem assimilar CO_2 , em condições hídricas adversas, controlando de modo específico a abertura estomática.

Respostas fotossintéticas à luz

As medidas da assimilação de CO_2 em função da taxa de fluência de fótons (medida da intensidade luminosa) permitem a elaboração de curvas de dose-resposta típicas para plantas C_3 e C_4 (Fig. 5.46a). No escuro, as trocas líquidas de CO_2 assumem valores negativos, visto que as trocas gasosas entre a folha e o ambiente são determinadas, exclusivamente, pela respiração celular. Na transição gradual entre escuro e claro, na medida em que aumenta a intensidade luminosa, diminui a taxa de liberação de CO_2 foliar devido à crescente fotossíntese bruta (F_{BR}). As taxas de F_{BR} aumentam proporcionalmente ao aumento da disponibilidade de fótons. No momento em que a taxa de fluência de fótons proporciona um valor de fotossíntese líquida (F_L) igual a zero, diz-se que foi atingido o *ponto de compensação de luz* (PCL; ver equação [34]). Esse parâmetro representa, portanto, um valor de intensidade luminosa no qual a taxa de consumo de CO_2 pela F_{BR} se iguala à taxa de liberação de CO_2 através da respiração mais fotorrespiração.

Na faixa de baixa intensidade luminosa, a fotorrespiração ainda é muito baixa. Com a continuidade do aumento da taxa de fluência de fótons, a F_{BR} passa a se elevar muito mais rapidamente do que a respiração e a fotorrespiração, aumentando progressivamente a F_L . As taxas de assimilação de CO_2 apresentam, assim, um aumento linear em função da intensidade luminosa. Essa fase linear da curva corresponde à etapa em que a fotossíntese é limitada pela luz. A quantidade de fótons determina os níveis ATP e NADPH disponíveis para a assimilação de CO_2 .

Embora a fotossíntese das plantas C_3 e C_4 tenha um comportamento semelhante na fase linear da curva de resposta à luz, as plantas C_3 destacam-se pela sua maior *eficiência quântica* quando as temperaturas são inferiores a 30°C. A eficiência quântica relaciona a quantidade de CO_2 assimilada com a quantidade de fótons absorvida (número de moles de CO_2 fixado/número de moles de fótons absorvido), fornecendo uma medida direta da energia exigida para a fixação de CO_2 . Assim, sob baixas

**FIGURA 5.46**

Resposta da fotossíntese líquida à variação da intensidade de radiação fotossinteticamente ativa (número de fótons de RFA em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). (a) Fotossíntese líquida em planta C₃ em diferentes intensidades luminosas; (b) fotossíntese líquida em plantas C₃ e C₄ em função da intensidade luminosa; (c) comparação da fotossíntese líquida de plantas C₃ adaptadas ao sol e à sombra em intensidades luminosas crescentes. (Larcher, 2000, modificado.)

intensidades luminosas e abaixo de 30°C, a fotossíntese das plantas C₃ é mais eficiente do que a fotossíntese das plantas C₄. Isso ocorre porque a fixação de CO₂ através da via C₄ tem um custo energético superior ao da via C₃ (ver Balanço Energético do Ciclo C₃).

Sob elevadas intensidades luminosas, entretanto, as curvas de assimilação de CO₂ das plantas C₃ e C₄ se diferenciam destacadamente (Fig. 5.46b). Quando a intensidade luminosa supera 200 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (10% da radiação solar plena), o aumento da intensidade luminosa não acarreta mais um incremento proporcional nas taxas de fotossíntese em plantas C₃ até cerca de 500 a 1.000 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (cerca 1/4 a 1/2 da radiação solar máxima). A partir desse ponto, a fotossíntese das plantas C₃ permanece constante. Diz-se que a fotossíntese alcançou a *saturação luminosa*. O valor da intensidade luminosa a partir do qual a fotossíntese permanece estável é conhecido como *ponto de saturação de luz* (PSL). A fotossíntese das plantas C₄, ao contrário, não satura com o aumento da intensidade luminosa, podendo assumir valores crescentes até as taxas máximas de fluência de fótons existentes sobre a superfície da terra (2.000 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou mais).

Entretanto, sob elevada intensidade luminosa, as plantas C₃ podem vir a apresentar um desempenho fotossintético semelhante ao das plantas C₄ se a atmosfera contiver uma reduzida concentração de O₂ (2%) ou com elevada concentração de CO₂ (0,07%). Tal observação experimental indica que a limitação da fotossíntese C₃, sob elevada intensidade luminosa, está relacionada com as limitações do metabolismo do carbono (ciclos C₂ e C₃). Resumidamente, pode-se concluir que, sob elevadas intensidades luminosas, a fotossíntese das plantas C₃ é substancialmente limitada pela fotorrespiração.

PLANTAS DE SOL E DE SOMBRA

As plantas C₃ apresentam grande diversidade de respostas fotossintéticas a variações ambientais, principalmente em relação à luz. Plantas adaptadas ao sol apresentam elevadas taxas fotossintéticas e elevadas taxas de crescimento sob iluminação intensa. Por outro lado, apresentam fotossíntese ineficiente e dificuldades de sobreviver quando crescem sob baixa intensidade luminosa (sombra ou interiores de construções). As plantas de sol e de sombra *obrigatórias* são incapazes de se ajustar a condições extremas de iluminação. Entretanto, muitas espécies apresentam grande flexibilidade de resposta à intensidade luminosa. São plantas de sol e sombra *facultativas*, capazes de crescer em ambientes com diferentes intensidades luminosas.

Plantas de sol e de sombra caracterizam-se por diferenças marcantes em seus valores de PCL, PSL e nas velocidades máximas de fotossíntese quando em condições ambientais ótimas (Fig. 5.46c). O PCL, para a maioria das plantas de sol, situa-se na faixa de 10 a 40 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o que equivale à intensidade luminosa de um ambiente interno bem iluminado (Hopkins, 1995). Entretanto, em plantas C₃ adaptadas à sombra, o PCL é mais baixo, variando entre 1 e 5 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Taiz & Zeiger, 1991). As reduzidas taxas respiratórias, observadas nas plantas de sombra, contribuem significativamente para o abaixamento do seu PCL (equação [34]). Em plantas de sombra, as taxas fotossintéticas máximas, bem como o ponto de saturação de luz da fotossíntese, assumem valores bem inferiores aos observados em plantas de sol. Tais características fotossintéticas refletem a estratégia de sobrevivência desenvolvida pelas plantas adaptadas à limitação de luz: elevada eficiência de captação e uso da luz disponível e baixas taxas de crescimento.

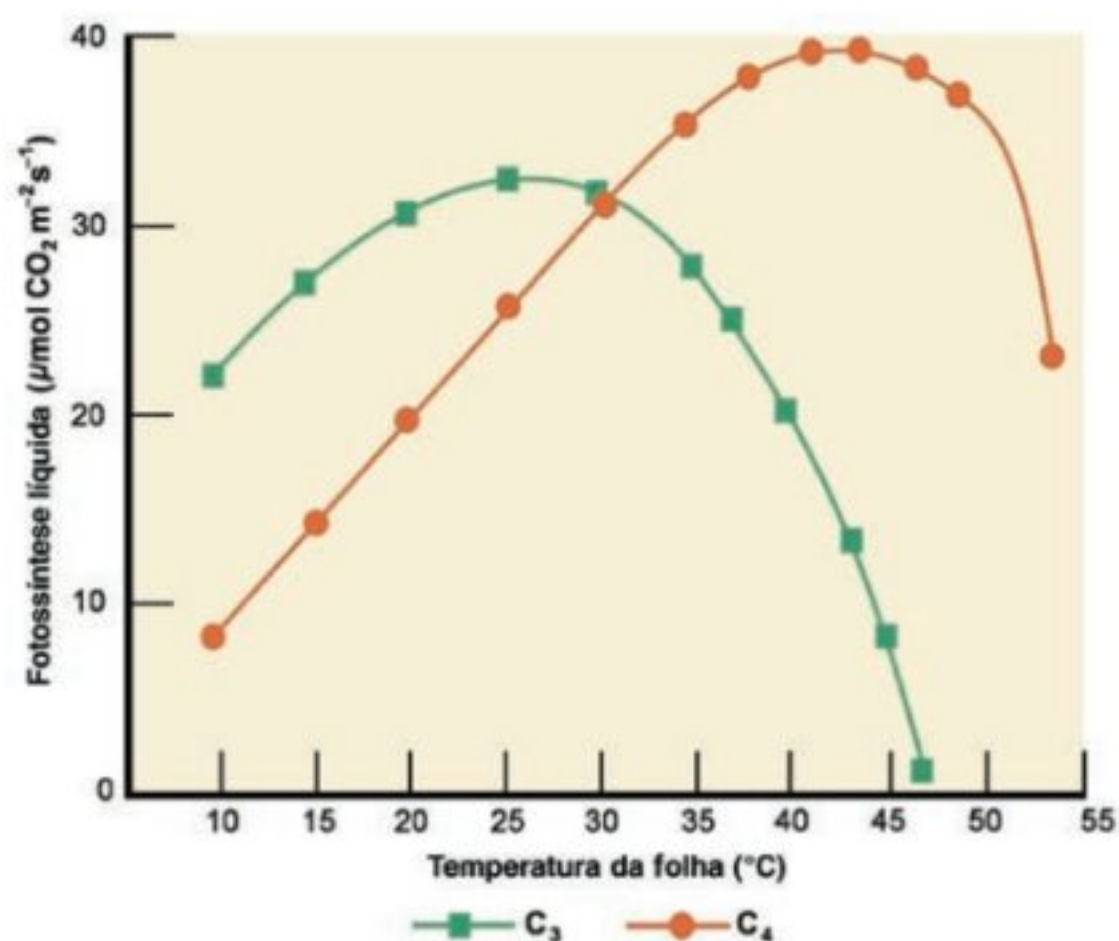


FIGURA 5.47

Efeito da temperatura foliar sobre as taxas de fotossíntese líquida de plantas com metabolismo fotossintético C₃ e C₄. (Leegood, 1993, modificado.)

Resposta fotossintética à temperatura foliar

Em condições atmosféricas normais, a fotossíntese de plantas C₃ e C₄ apresenta diferenças marcantes em função da temperatura (Fig. 5.47). Normalmente, temperaturas foliares altas têm uma correlação direta com elevados níveis de irradiância. As plantas C₄ tendem a apresentar temperaturas ótimas para a fotossíntese mais elevadas do que as plantas C₃. Em folhas de plantas C₃, a assimilação de CO₂ atinge valores máximos na faixa de 20–30°C. Já as plantas C₄ apresentam temperaturas ótimas na faixa de 30–40°C. Entretanto, em temperaturas inferiores a 30°C, o desempenho fotossintético das plantas C₃ supera o desempenho das plantas C₄. Abaixo de 20°C, as taxas fotossintéticas das plantas C₄ são muito inferiores às das plantas C₃. Por outro lado, em temperaturas superiores a 30–35°C, a assimilação de CO₂ de plantas C₃ decresce rapidamente, em contraste com as plantas C₄, que podem suportar temperaturas de até 45–50°C sem apresentarem danos à fotossíntese.

A sensibilidade das plantas C₄ a baixas temperaturas é um fato bem conhecido. A espécie *Zea mays* (milho), por exemplo, não cresce em temperaturas inferiores a 12–15°C. Um dos fatores limitantes ao crescimento parece ser a enzima *piruvato fosfato dicinase* (PFdC), a qual perde substancialmente a sua atividade abaixo de 12°C. Adicionalmente, a temperatura ótima da PEPcase é de 30–35°C.

A maior eficiência fotossintética das plantas C₃ sob temperaturas mais baixas também é demonstrada ao se estudar a eficiência quântica da fotossíntese em função da temperatura (Fig. 5.48). A eficiência quântica das plantas C₃ diminui continuamente à medida que a temperatura aumenta, mas permanece constante nas plantas C₄, numa ampla faixa de temperatura. Em

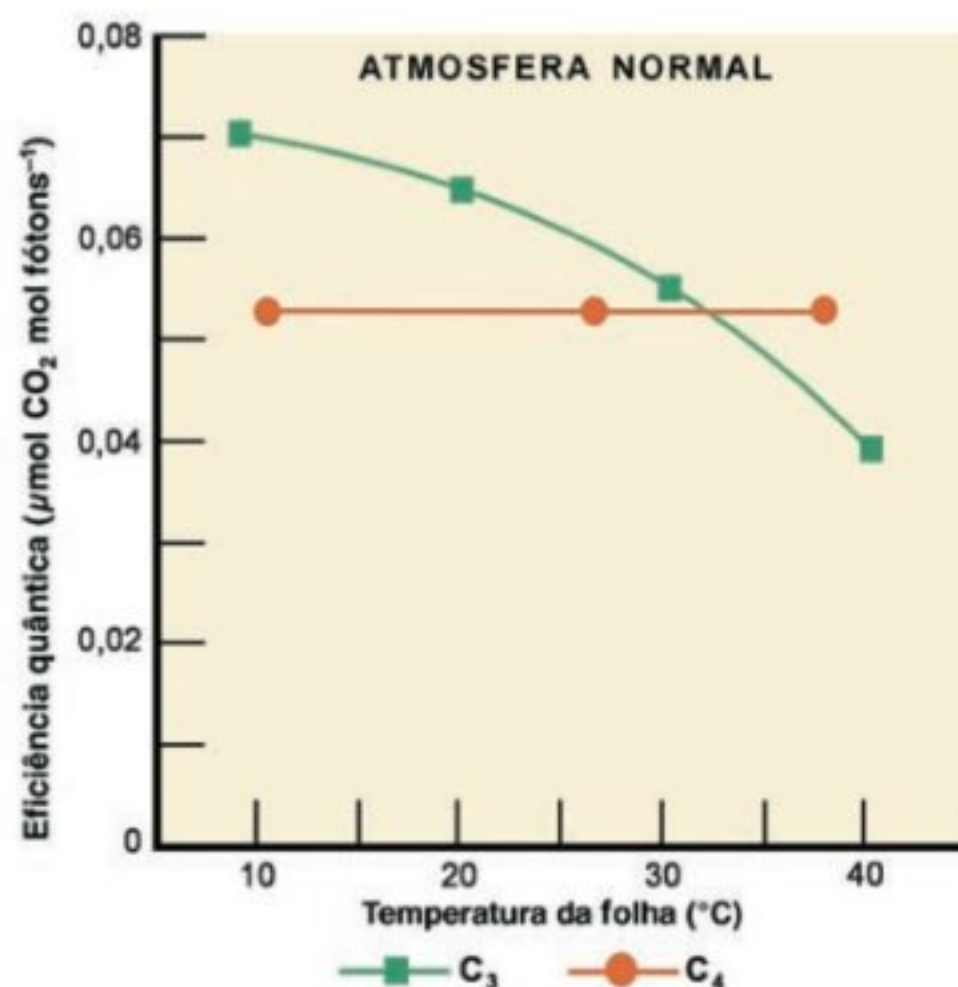


FIGURA 5.48

Eficiência quântica de plantas C₃ e C₄ em função da temperatura foliar. A eficiência quântica é um índice que relaciona número de moles de CO₂ fixado pelo número de fótons absorvidos. (Leegood, 1993, modificado.)

torno de 30°C, a eficiência quântica das plantas C₃ e C₄ é semelhante, indicando que os custos energéticos dos ciclos C₃/C₂ e do ciclo C₄ se equiparam nesse ponto. Em ambos os casos, esse comportamento da fotossíntese, em função da temperatura, está relacionado com os níveis de fotorrespiração em cada um dos tipos fotossintéticos. A fotorrespiração é praticamente inexistente nas plantas C₄. Porém, nas plantas C₃, as taxas de fotorrespiração aumentam com a temperatura devido ao aumento da atividade oxigenase da rubisco. Convém destacar, ainda, que os custos energéticos da fixação de CO₂ pelas plantas C₃ se elevam à medida que aumentam as taxas do ciclo C₂ (ver O Papel da Fotorrespiração). Numa atmosfera com 2% de O₂ ou enriquecida com CO₂, a fotorrespiração é suprimida nas plantas C₃. Nessas condições, a eficiência quântica das plantas C₃ atinge níveis superiores ao das plantas C₄. Isso se deve ao custo adicional permanente da fixação de CO₂ através da via C₄ (5 ATP e 2 NADPH) em comparação com o ciclo C₃ (3 ATP e 2 NADPH).

Em resumo, a fotossíntese das plantas C₄ é substancialmente mais eficiente do que a das plantas C₃ em ambientes quentes e intensamente iluminados. As bases fisiológicas centrais dessa adaptação são o mecanismo concentrador de CO₂ presente na fotossíntese C₄, inibidor da fotorrespiração, bem como as temperaturas ótimas mais elevadas de suas principais enzimas.

Eficiência de uso do nitrogênio

A capacidade fotossintética das plantas, de um modo geral, é grandemente dependente da disponibilidade de nitrogênio. O nitrogênio é necessário para garantir a integridade estrutural e funcional da fotossíntese por fazer parte das proteínas e cloro-

filas. A quantidade de matéria seca produzida por unidade de nitrogênio presente nos tecidos da planta constitui um parâmetro denominado *eficiência de uso do nitrogênio (EUN)*.

$$EUN = \text{mg N nos tecidos/g massa seca da planta}$$

As plantas C_4 e MAC precisam destinar menos nitrogênio para a fotossíntese do que as plantas C_3 . A rubisco corresponde a 50% da proteína foliar solúvel em folhas C_3 , enquanto, nas plantas C_4 e MAC, a sua quantidade é reduzida a 25% da proteína foliar solúvel. Ao mesmo tempo, a PEPcase corresponde a 10% da proteína foliar solúvel nas plantas C_4 e MAC. Desse modo, o aporte total em nitrogênio para as enzimas de carboxilação é sensivelmente menor nas plantas C_4 e MAC (Leegood, 1993). Nas plantas C_4 e nas plantas MAC, a EUN é, portanto, maior do que nas plantas C_3 . Isso significa que as plantas C_4 são capazes de produzir maior quantidade de moléculas orgânicas com menor quantidade de nitrogênio, competindo vantajosamente com as plantas C_3 em solos pobres em nitrogênio (Oaks, 1994).

Fotossíntese e produtividade em comunidades vegetais

O crescimento e a produtividade das plantas são promovidos pela fotossíntese. Entretanto, não existe uma correlação direta entre as taxas de fotossíntese por unidade de área foliar (F_L) e a produção de biomassa em determinado intervalo de tempo (Lawlor, 1987). As taxas de acúmulo de biomassa observadas em uma planta, ao longo de um período definido (dias, meses), dependem de uma interação complexa entre fatores ambientais e genéticos que influenciam:

1. As taxas de fotossíntese por unidade de área foliar (F_L);
2. As taxas de respiração celular;
3. O tamanho e a orientação espacial da área verde de interceptação de luz, ou seja, arquitetura do dossel;
4. A duração da área foliar fotossinteticamente ativa.

A produtividade e o crescimento vegetal são normalmente quantificados tendo como base o acúmulo de *massa seca* (ou *matéria seca*) por um órgão, organismo ou população num intervalo de tempo. A massa seca é determinada mediante a dessecação de órgãos ou plantas em estufa (60–70°C) até a remoção de toda a água livre presente nos tecidos. Os elementos inorgânicos, indispensáveis ao metabolismo vegetal, representam menos de 10% da matéria seca total, sendo, no entanto, assimilados com o uso da energia fotossintética. Mais de 90% da massa seca correspondem a moléculas orgânicas derivadas da fixação de CO_2 pela via C_3 , podendo ter funções estruturais, metabólicas ou de reserva.

Nos ecossistemas naturais, a produtividade líquida (matéria seca acumulada) difere grandemente devido a fatores climáticos e edáficos. Na tundra e desertos, onde os fatores limitantes principais são, respectivamente, a temperatura e a água, a produtividade é baixa, atingindo valores em torno de 100 a 200 g de matéria seca por m^{-2} por ano. Já nas florestas tropicais, a produ-

tividade líquida é de cerca de 5.000 g m^{-2} ano (Chrispeels & Sadava, 1996). Por outro lado, tendo como base a unidade de área, a produtividade terrestre é cinco vezes maior do que a dos oceanos. Tal diferença é parcialmente devida a diferenças no suprimento de nutrientes minerais. Na maior parte dos oceanos, organismos mortos e detritos orgânicos afundam carregando os nutrientes para fora da área superficial onde a fotossíntese pode se desenvolver.

FOTOSSÍNTESE POR UNIDADE DE ÁREA FOLIAR (F_L) E PRODUTIVIDADE

Conforme vimos ao longo da seção Metabolismo do Carbono na Fotossíntese, as taxas de fotossíntese líquida (F_L) dependem da via de fixação de CO_2 de cada espécie (C_3 , C_4 , MAC). A via de fixação de CO_2 de uma planta é um fator genético que determina o seu potencial de assimilação de CO_2 , bem como a interação da sua fotossíntese com fatores ambientais críticos (luz, disponibilidade de CO_2 , temperatura e disponibilidade de água e nutrientes). A F_L é, portanto, uma propriedade foliar que determina o potencial de geração de carboidratos de uma planta, sendo expressa em termos de μmoles de CO_2 assimilado por unidade de área foliar por unidade de tempo.

TAXAS DE RESPIRAÇÃO CELULAR E PRODUTIVIDADE

Depois da assimilação do CO_2 , a respiração celular é o principal processo que determina o acúmulo de matéria seca. Conseqüentemente, a produtividade das plantas também é dependente das perdas respiratórias ao longo do período de crescimento. Estima-se que 20 a 40% de tudo o que é produzido pela planta sejam consumidos na respiração celular do organismo. A temperatura é um fator que afeta decisivamente as taxas respiratórias. As velocidades da fotossíntese e da respiração variam de modo diferenciado em função da temperatura (Fig. 5.49). Acima de 30°C, a fotossíntese líquida das plantas C_3 começa a diminuir, enquanto as taxas de respiração aumentam (Chrispeels e Sadava, 1996).

A respiração fornece energia e substratos para todos os processos bioquímicos de manutenção das estruturas já existentes (*respiração de manutenção*) e de formação de novas estruturas e componentes celulares (*respiração de crescimento*). Tal concepção facilita compreender por que as taxas de respiração podem variar de acordo com a fase de desenvolvimento de uma planta ou órgão e com as taxas de crescimento de cada espécie vegetal. Durante a fase de crescimento vegetativo intenso, plantas ou órgãos vegetais tendem a apresentar taxas de respiração mais elevadas do que no período de maturidade, em função das exigências biossintéticas. Ao mesmo tempo, as taxas de respiração celular tendem a ser mais baixas em espécies de crescimento lento como aquelas adaptadas à sombra.

Por outro lado, existem evidências concretas de que é possível obter plantas mais produtivas combinando-se baixas taxas de respiração com elevadas taxas de fotossíntese, numa enorme

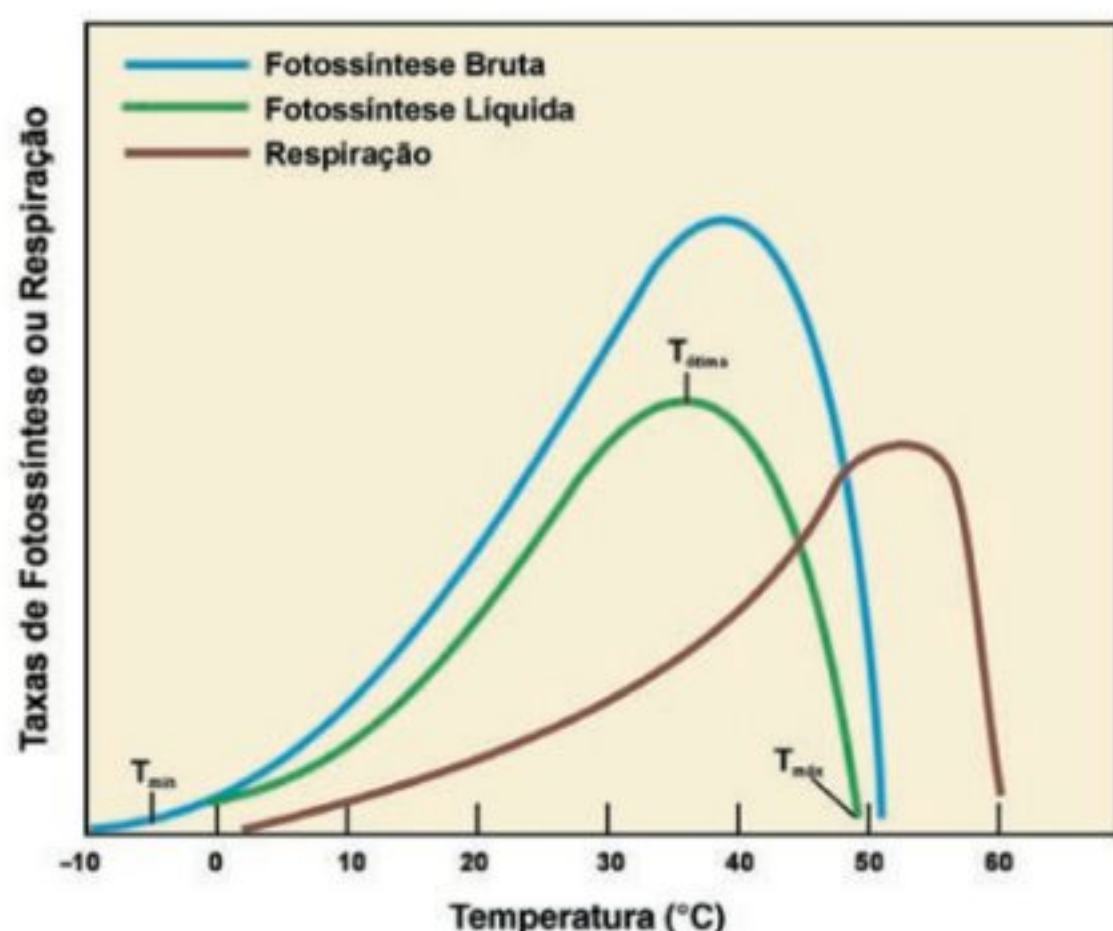


FIGURA 5.49

Diagrama ilustrando o efeito da temperatura sobre as taxas de fotossíntese bruta, respiração e fotossíntese líquida. A fotossíntese líquida é determinada pela diferença entre a fotossíntese bruta e a respiração somada à fotorrespiração. A fotossíntese bruta aumenta até que a temperatura comece a ser inibitória devido a fatores como desnaturação enzimática e fechamento estomático. A respiração aumenta lentamente com a temperatura, tendo temperatura ótima mais elevada do que a fotossíntese bruta, mas declina rapidamente acima de 50°C devido à inativação de enzimas.

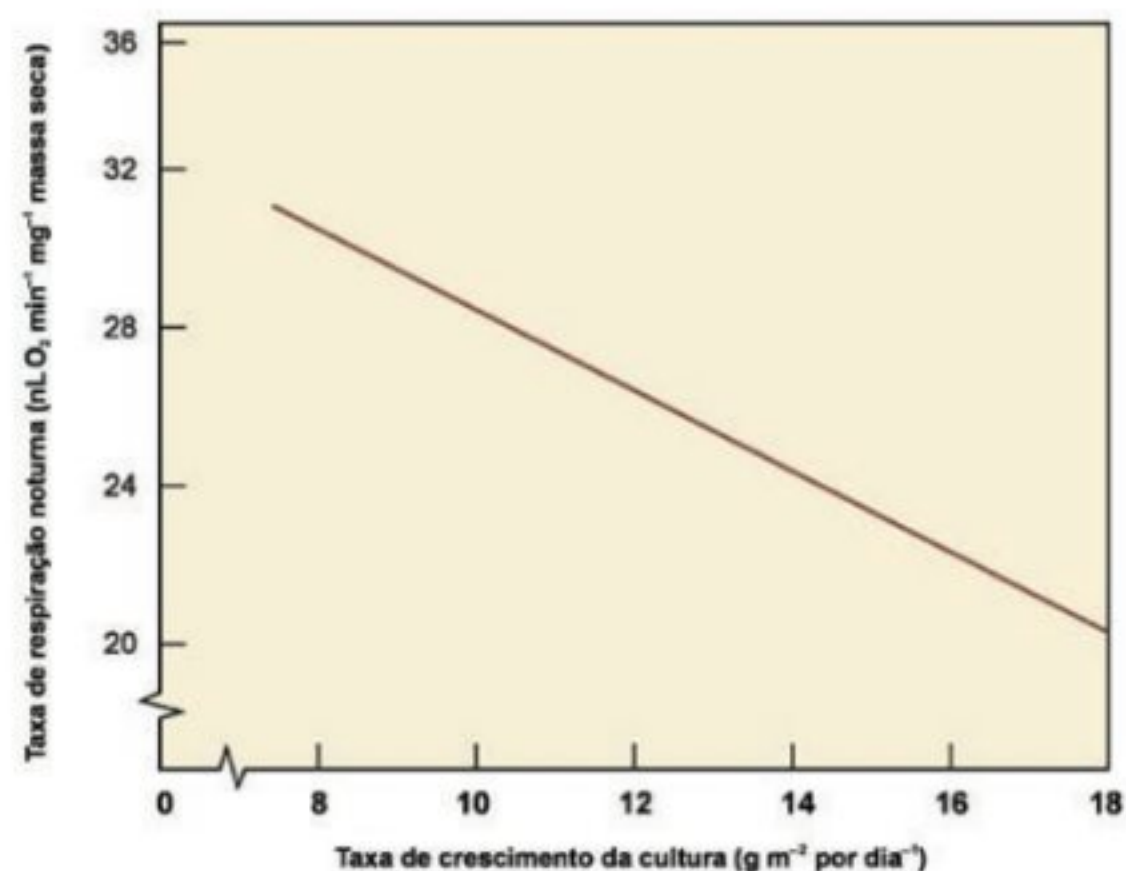


FIGURA 5.50

Correlação entre taxas respiratórias e taxas de crescimento de plantas de diferentes genótipos de *Lolium perenne*. As taxas de crescimento são inversamente correlacionadas com as taxas de respiração basal dos tecidos foliares. (Wilson, 1982, modificado.)

mesma área com folhas ordenadas em camadas de acordo com a espécie (Larcher, 2000).

$$\text{IAF} = \frac{\text{soma de toda a superfície foliar (m}^{-2}\text{)}}{\text{área do solo (m}^{-2}\text{)}}$$

gama de condições ambientais (Lawlor, 1987). Num estudo com cultivares de uma espécie de gramínea perene (*Lolium perenne*), foi possível identificar genótipos com uma significativa variabilidade nas taxas respiratórias (2,0 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹ a 3,5 mg CO₂ g⁻¹ h⁻¹). Essa seleção foi baseada nas taxas de respiração de folhas maduras a 25°C (respiração de manutenção). Os resultados obtidos permitiram estabelecer uma correlação *negativa* entre a respiração e as taxas de crescimento (Fig. 5.50), ou seja, as maiores taxas de crescimento foram encontradas nos genótipos que apresentavam as menores taxas de respiração. Isso significa que a manipulação genética das taxas de respiração basal pode contribuir para o aumento da produtividade de plantas cultivadas (Wilson, 1982).

PRODUTIVIDADE E ARQUITETURA DO DOSSEL

A produtividade de uma comunidade vegetal é intensamente dependente da interceptação de luz e, conseqüentemente, da área foliar. A interceptação de luz numa comunidade vegetal aumenta quase linearmente com o aumento da *área foliar por unidade de superfície do solo* (*índice de área foliar* ou IAF) até o ponto em que o sombreamento foliar mútuo passe a ser limitante. O IAF é um índice que quantifica a razão entre a área foliar total (m⁻²) e a área de solo (m⁻²). O IAF é uma medida adimensional da cobertura vegetal. Com um índice de área foliar igual a 4, a superfície do solo estaria coberta quatro vezes pela

atenuação da radiação na cobertura vegetal depende da densidade da folhagem, do arranjo das folhas no interior da vegetação e do ângulo existente entre a folha e a radiação incidente (Larcher, 2000). O auto-sombreamento intenso reduz a eficiência global de interceptação de luz, reduzindo o ganho de carbono em longo prazo. Folhas que não podem contribuir para a fotossíntese por limitação de luz representam um dreno de carbono devido às suas perdas respiratórias. Os valores do IAF em ecossistemas agrícolas produtivos situam-se na faixa entre 3 e 5 (Lawlor, 1987).

O *dossel* de uma planta ou comunidade vegetal é constituído de todas as estruturas da parte aérea que interferem na interceptação da luz incidente. Folhas, pecíolos e ramos existentes no dossel interferem na penetração da luz no interior de uma comunidade vegetal. A arquitetura do dossel influencia a eficiência de utilização da luz, porque a penetração de luz através do dossel de uma planta é dependente de sua organização e estrutura. A estrutura do dossel, por sua vez, é determinada pela composição etária das folhas e pela morfologia, tamanho, ângulo de inserção, orientação, distribuição e espaçamento de folhas individuais e ramos. A arquitetura do dossel varia substancialmente com a espécie vegetal e durante o curso do desenvolvimento de cada planta.

O IAF ótimo para determinada população de plantas depende do ângulo de inserção das folhas em relação ao caule, sendo também influenciado pelo tamanho e forma das folhas. Estudos a campo e simulações com modelos computadorizados indicam que dosséis com folhas tipicamente horizontais apresentam IAF ótimo em torno de 2, enquanto dosséis constituídos de folhas

com inserção vertical suportam valores de IAF ótimos entre 3 e 7. Plantas com folhas mais eretas permitem um plantio mais adensado (menor espaçamento entre plantas). A distribuição de luz mais uniforme através do dossel tende a aumentar a eficiência da interceptação da luz e, conseqüentemente, a eficiência de assimilação de carbono pela comunidade.

De modo geral, os maiores sucessos obtidos na tentativa de aumentar a eficiência fotossintética das plantas cultivadas têm envolvido mudanças na área de interceptação de luz, na estrutura do dossel e na *duração da fase fotossinteticamente ativa das folhas*. Espécies cultivadas, principalmente cereais, com folhas mais eretas exibem maiores taxas de fotossintéticas e tendem a apresentar maior produtividade econômica.

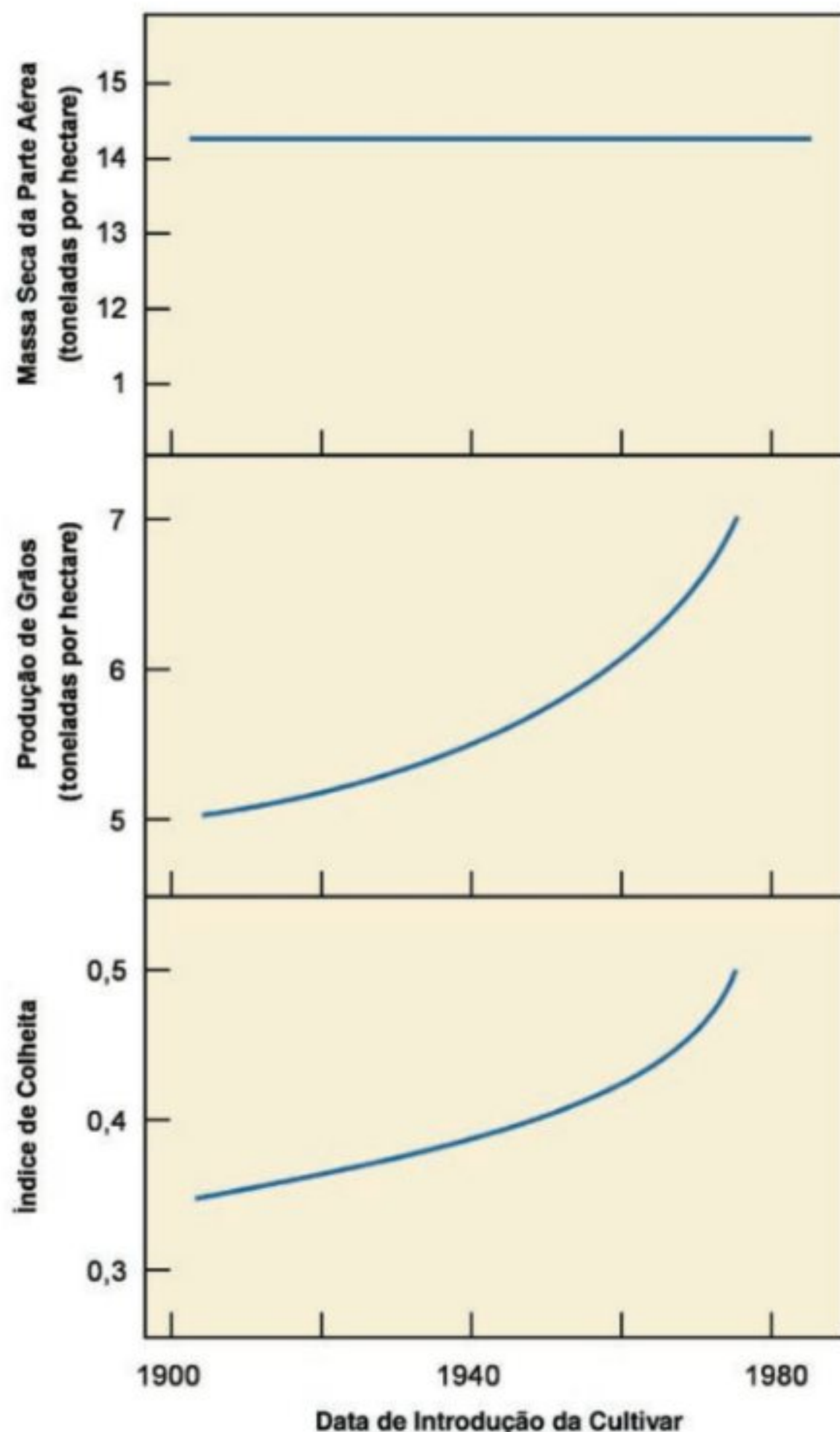


FIGURA 5.51

Massa seca da parte aérea e índice de colheita em oito cultivares britânicos de trigo plotados de acordo com o ano de introdução de cada cultivar. O cultivo foi conduzido em solo fértil e com manejo intensivo. (Gifford *et al.*, 1982, modificado.)

FOTOSSÍNTESE E PRODUTIVIDADE ECONÔMICA DAS CULTURAS

A fotossíntese e o rendimento econômico de uma cultura também são processos indiretamente relacionados. O rendimento corresponde à fração da matéria seca que se acumula nas partes da planta utilizadas no consumo humano (p. ex., frutos, sementes, tubérculos). O rendimento pode ser avaliado através da razão entre a massa seca da parte colhida e a matéria seca total produzida pela planta. Essa razão é denominada *índice de colheita (IC)*. Isso significa que os processos metabólicos envolvidos no controle da *partição* da massa seca entre as fontes e os drenos da planta têm um papel importante no estabelecimento do índice de colheita.

$$IC = \frac{\text{massa seca do órgão consumido/}}{\text{massa seca total da planta}}$$

Muitos programas de seleção e melhoramento de espécies cultivadas **não** têm tido como resultado a elevação da produção de matéria seca total (produtividade). Na realidade, o melhoramento genético tem sido capaz de elevar significativamente o índice de colheita das plantas cultivadas. Os cultivares modernos de cereais apresentam maior área foliar mas menor F_L do que os cultivares mais antigos (Gifford *et al.*, 1984). Conseqüentemente, a produtividade total não difere em condições nutricionais semelhantes. Entretanto, o IC das variedades modernas é superior ao das variedades mais antigas (Fig. 5.51).

Em grande parte das áreas cultivadas do nosso planeta, o rendimento das culturas tende a ser menor do que o potencial genético das espécies e cultivares devido a deficiências nutricionais, seca, salinidade, pragas e doenças. Melhorar a eficiência das plantas cultivadas em relação a tais limitações é um outro enorme desafio para o aumento do rendimento e produção de alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a colaboração, na execução das figuras, de Rodrigo dos Reis Salles.

REFERÊNCIAS

- Albertsson P-A°. The structure and function of the chloroplast photosynthetic membrane. A model for the domain organization. *Photosynthesis Research*, 46:141-149, 1995.
- Buchanan BB. Carbon dioxide assimilation in oxygenic and anoxygenic photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 33:147-162, 1992.
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 1ª ed. Maryland: Courier Companies Inc, 2000, 1367 p.
- Chrispeels MJ, Sadava DE. Il ruolo dell'energia nell'accrescimento vegetale e nella produzione delle coltivazioni. In: *Biologia Vegetale Applicata*. Padova: Piccin Nuova Libreria, 1996, p 184-211.
- Chollet R, Vidal J, O'Leary MH. Phosphoenolpyruvate carboxylase: A ubiquitous, highly regulated enzyme in Plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47:273-298, 1996.
- Demming-Adams B, Gilmore AM, Adams III WW. *In vivo* functions of carotenoids in higher plants. *The FASEB Journal*, 10:403-412, 1996.

- Foyer CH, Valadier MH, Ferrario S. Co-regulation of nitrogen and carbon assimilation in leaves. In: Smirnov N (ed). *Environment and Plant Metabolism: Flexibility and Acclimation*, 1st ed. Oxford: Bios Scientific Publishers Ltda, 1995, p 17-33.
- Furbank RT, Taylor WC. Regulation of photosynthesis in C3 and C4 plants: a molecular approach. *The Plant Cell*, 7:797-807, 1995.
- Gifford RM, Thorne JH, Hitz WD, Giaquinta RT. Crop Productivity and photoassimilate partitioning. *Science*, 225:801-808, 1984.
- Grossman AR, Bhaya D, Apt KE, Kehoe DM. Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: Diversity, Control, and Evolution. *Annual Reviews of Genetics*, 29:231-88, 1995.
- Gutteridge S, Gatenby AA. Rubisco synthesis, assembly, mechanism, and regulation. *The Plant Cell*, 7:809-819, 1995.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 1998, 512 p.
- Joyard J, Teyssier E, Miège C, Berny-Seigneurin D, Maréchal E, Block MA, Dorne A-J, Rolland N, Ajlani G., Douce R. The biochemical machinery of plastid envelope membranes. *Plant Physiology*, 118:715-723, 1998.
- Keely JE. CAM photosynthesis in submerged aquatic plants. *The Botanical Review*, 64:121-175, 1998.
- Larcher W. *Ecofisiologia Vegetal*, 1st ed. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2000, 531 p.
- Lawlor DW. *Photosynthesis: Metabolism, Control and Physiology*. England: Longman Scientific & Technical, 1987, 262 p.
- Leegood RC. Carbon dioxide-concentrating mechanisms. In: Lea PJ, Leegood RC (eds). *Plant Biochemistry and Molecular Biology*, 1st ed. New York: John Wiley & Sons. 1993, p 47-72.
- Leegood RC, Lea PL, Adcock MD, Häusler RE. The regulation and control of photorespiration. *Journal of Experimental Botany*, 46:1397-1414, 1995.
- Long SP, Hälgren J-E. Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolhàr-Nordenkampf HR, Leegood RC, Long SP (eds). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A Field and Laboratory Manual*. London: Chapman & Hall, 1993, p 129-167.
- Lorimer GH, Andrews TJ. The C2 chemo- and photorespiratory carbon oxidation cycle. In: Stumpf, PK, Conm EE (eds). *The Biochemistry of Plants*, 8:329-374, 1981.
- Maffei M. *Biochimica Vegetale*, 1st ed. Padova: Piccin Nuova Libreria, 1999, 612 p.
- Mann CC. Genetic engineers aim to soup up crop photosynthesis. *Science*, 283:314-316, 1999.
- Moroney JV, Somanchi A. How do algae concentrate CO₂ to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation? *Plant Physiology*, 119:9-16, 1999.
- Nimmo HG, Carter PJ, Fewson CA, Nelson JPS, Nimmo GA, Wilkins MB. Regulation of malate synthesis in CAM plants and guard cells; effects of light and temperature on the phosphorylation of phosphoenolpyruvate carboxylase In: Smirnov N (ed). *Environment and Plant Metabolism. Flexibility and Acclimation*. Bios Scientific Publishers Ltda, 1st ed. Oxford: Bios Scientific Publishers Ltda, 1995, p 35-45.
- Nobel PS. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, 4th ed. London: Academic Press, 1991, 635 p.
- Oaks A. Efficiency of nitrogen utilization in C3 and C4 cereals. *Plant Physiology*, 106:407-414, 1994.
- Pakrasi HB. Genetic analysis of the form and function of photosystem I and Photosystem II. *Annual Review of Genetics*, 29:755-76, 1995.
- Salisbury FB, Cleon WR. Photosynthesis: environmental and agricultural aspects. In *Plant Physiology*. 4th ed. Belmont: Wadsworth Inc., 1992, p 249-265.
- Taiz L, Zeiger E. Photosynthesis: physiological and ecological considerations. In: *Plant Physiology*, 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 1991, p 227-249.
- Vogelman TC, Nishio JN, Smith WK. Leaves and light capture: Light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in Plant Science*, 1996, 1:65-70.
- Wilson D. Response to selection for dark respiration rate of mature leaves in *Lolium perenne* and effects on growth of young plants and simulated swards. *Annals Botany*, 49:303-312, 1982.
- Woodrow IE, Berry JA. Enzymatic regulation of photosynthetic CO₂ fixation in C3 plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39:533-94, 1988.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Apel P. Evolution of the C4 photosynthetic pathway: a physiologists' point of view. *Photosynthetica*, 30:495-502, 1994.
- Blankenship RE. Origin and early evolution of photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 33:91-111, 1992.
- Deisenhofer J, Harmut M. Structures of bacterial photosynthetic reaction centers. *Annual Review of Cell Biology*, 7:1-23, 1991.
- Golbeck JH. Structure and function of photosystem I. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43:293-324, 1992.
- Lawlor DW. Photosynthesis, productivity and environment. *Journal of Experimental Botany*, 46:1449-1461, 1995.
- Rao KK, Hall DO, Cammack R. The photosynthetic apparatus. In: H. Gutfreund H (ed). *Biochemical Evolution*. Oxford: Cambridge University Press, 1981, p 150-202.
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. Fotossíntese. In: *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 728 p.
- Roy H, Nierzwicki-bauer SA. RuBisCO: Genes, structure, assembly, and evolution. In: Bogorad L, Vasil IK (eds). *The Photosynthetic Apparatus: Molecular Biology and Operation*. Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Oxford: Academic Press, 7B:347-362, 1991.
- Stryer L. Fotossíntese. In: *Bioquímica*, 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995, p 621-648.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*, 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc, Publishers, 2002, 690p.
- Vermaas W. Molecular-biological approaches to analysis photosystem II structure and function. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44:457-81, 1993.
- Walker D. *Energy, Plants and Man*. 1st ed. East Sussex: Oxygraphics Limited, 1992, 277p.

Transporte no Floema

Manlio Silvestre Fernandes e Sonia Regina de Souza

VISÃO GERAL DO SISTEMA DE TRANSPORTE NO FLOEMA

O transporte e a distribuição de elementos nutritivos, principalmente açúcares, desde as áreas de síntese, que são as folhas fotossinteticamente ativas, ou a partir de órgãos de reserva, até as áreas de consumo desses elementos nutritivos, que são as folhas novas, flores ou frutos em desenvolvimento, é feito por um sistema condutor formado por células vivas, mas muito modificadas, chamadas, no seu conjunto, de floema.

Cerca de 80% do carbono assimilado na fotossíntese é transportado das folhas para atender ao metabolismo de células não-fotossintéticas.

O floema é originado a partir da diferenciação de células do câmbio vascular em direção ao exterior, enquanto o desenvolvimento para o interior resultará no xilema (Fig. 6.1). Assim, o

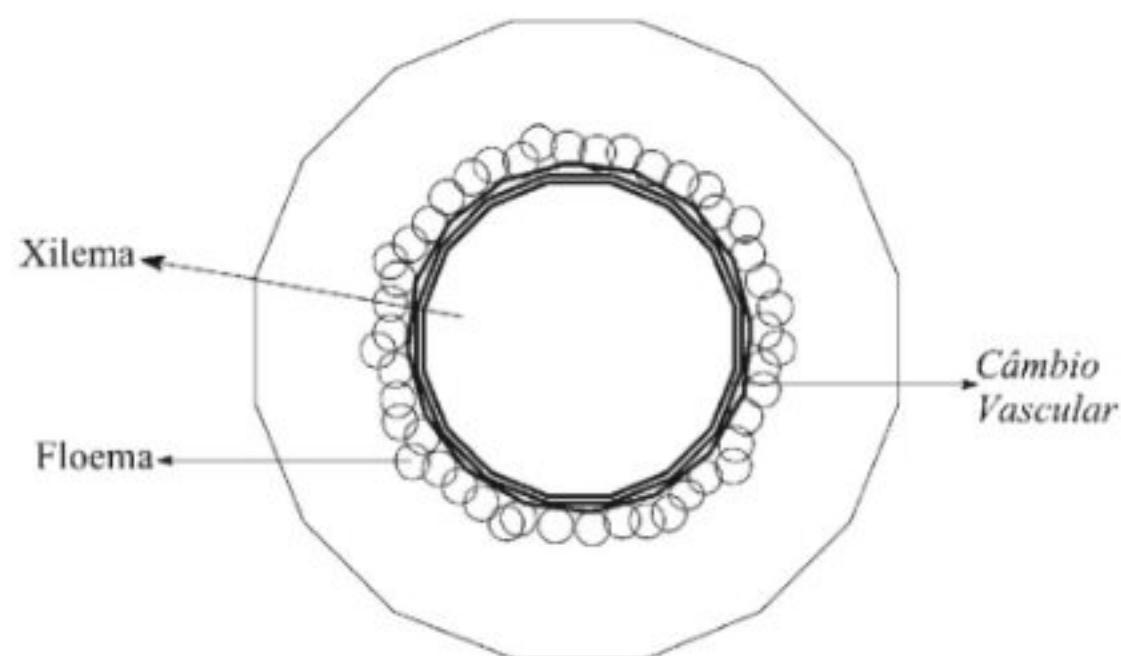


FIGURA 6.1

Corte transversal de caule mostrando o câmbio vascular e a diferenciação em floema (para o exterior) e xilema (para o interior).

floema está localizado na parte mais externa da área vascular e pode ser de origem primária ou secundária. O primeiro floema primário formado é chamado de protofloema, sendo distendido e destruído durante o alongamento do órgão.

O floema é um sistema de transporte constituído de um conjunto de células especializadas chamadas de elementos crivados (EC). Células companheiras, células do parênquima vascular e, em alguns casos, fibras, esclereídeos e células lactíferas também fazem parte do floema.

As principais células de condução do floema que constituem os elementos crivados podem ser de dois tipos: *células crivadas* em gimnosperma e os *elementos dos tubos crivados*, que são células altamente especializadas de angiosperma.

As células que compõem os elementos crivados possuem protoplasma vivo, núcleo ausente ou incipiente, e carecem de tonoplasto, não havendo limite nítido entre citoplasma e vacúolo.

O termo crivado refere-se aos poros através dos quais os protoplastos de elementos crivados adjacentes estão interconectados.

A principal distinção entre células crivadas e elementos dos tubos crivados é que, nas células crivadas, os poros possuem estrutura e distribuição uniforme pelas paredes, enquanto os elementos dos tubos crivados apresentam áreas crivadas com poros maiores formando as *placas crivadas*. Essas placas se localizam preferencialmente nas extremidades das paredes dos elementos dos tubos crivados. Os poros das placas crivadas são canais abertos que permitem o transporte entre as células.

Os elementos dos tubos crivados se dispõem em arranjos longitudinais formando os tubos crivados. Os elementos dos tubos crivados estão associados às células parenquimatosas especializadas, denominadas células companheiras. Ambas as células derivam da mesma célula-mãe e possuem numerosas conexões entre si.

Além das células constituintes dos elementos crivados e das células companheiras, outras células participam do complexo sistema de transporte do floema: como as células do parênquima vascular. Em algumas plantas podem ser encontradas ainda células especializadas no transporte de látex.

Uma visão de conjunto do sistema de transporte nas plantas pode ser observada na Fig. 6.2. Água e nutrientes, principalmente íons inorgânicos, deslocam-se desde as raízes até a parte aérea, através do xilema, graças às pressões que se desenvolvem no interior desses vasos. Por sua vez, açúcares, íons inorgânicos e outros solutos deslocam-se por toda a planta através do floema. As células componentes dos elementos crivados por onde esse transporte é feito estão intimamente ligadas às outras células (não-crivadas) através de múltiplos poros; são as células companheiras. Por essa conexão ser tão íntima, os elementos crivados e as células companheiras formam de fato um conjunto que pode ser chamado de complexo EC/CC (elementos crivados/células companheiras). As células companheiras, por sua vez, podem manter ligações com outras células do parênquima vascular, podendo formar um contínuo que as liga às células do mesofilo, onde ocorre a fotossíntese e a formação de esqueletos de carbono.

É interessante ainda observar, na Fig. 6.2, que a água que se desloca para a parte superior do feixe vascular pode deslocar-se desde o xilema até o floema. Inversamente, a água pode também se deslocar do floema para o xilema e do apoplasto para as células companheiras, e vice-versa. Embora os dois sistemas de vasos condutores sejam diferentes em sua função e estrutura, em ambos podem desenvolver-se grandes pressões internas, tanto positivas como negativas, que afetam o deslocamento da água e dos solutos.

Apesar de não estar indicado na Fig. 6.2, o deslocamento da água desde o apoplasto para dentro das células do complexo EC/CC é feito com a intermediação de proteínas de transporte (aquaporinas) localizadas na plasmalema das células do sistema.

O desenvolvimento do sistema elementos crivados/células companheiras (EC/CC) é bem característico das angiospermas, mas não ocorre do mesmo modo nas gimnospermas.

A utilização de corantes fluorescentes mostra que o sistema EC/CC está isolado das outras células. Entretanto, ocorre também o transporte lateral de fotoassimilados. Esse transporte ocorre através da plasmalema das CC, por um sistema de bombeamento.

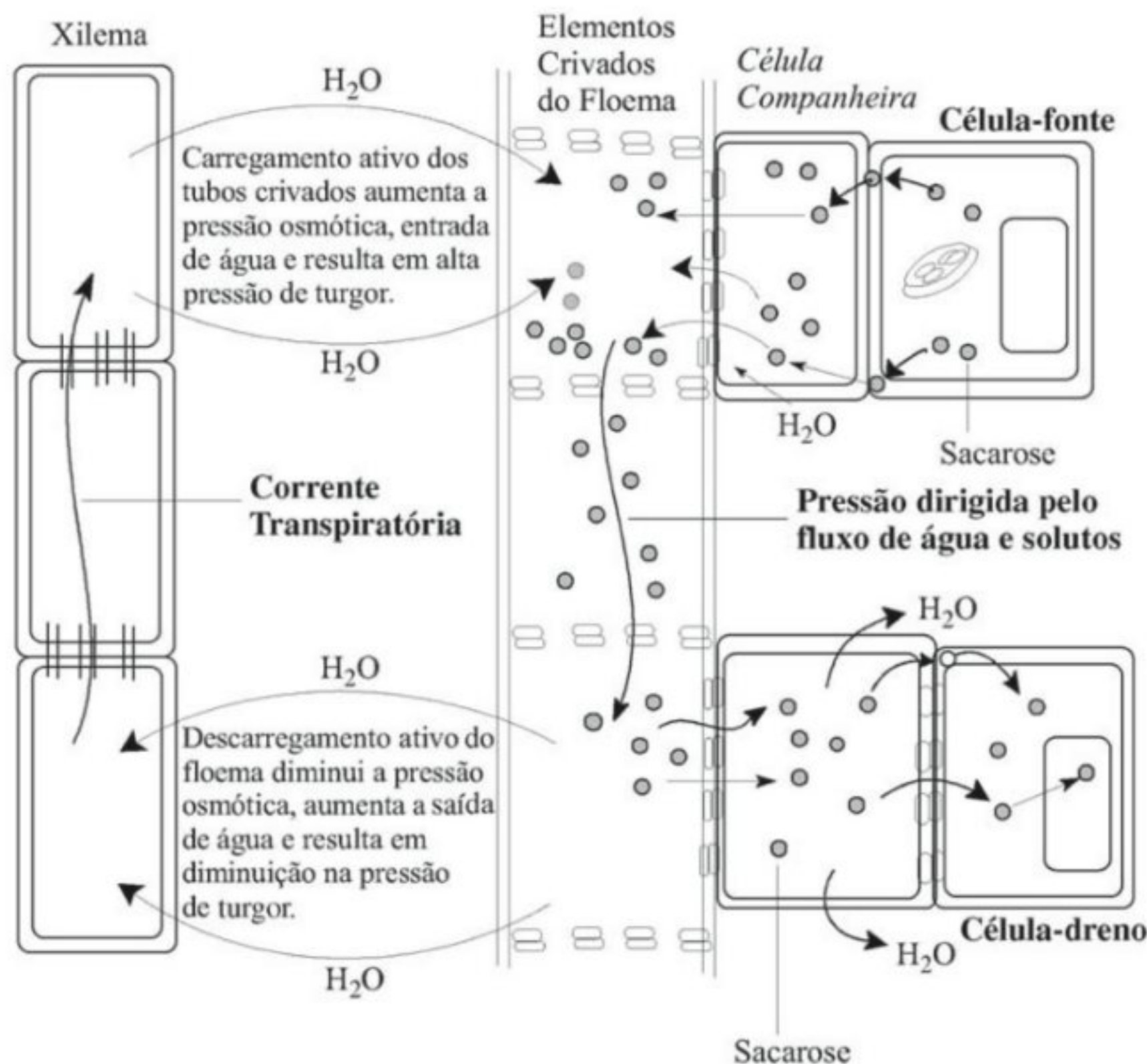


FIGURA 6.2

Diagrama esquemático do modelo de fluxo de pressão entre células-fonte e células-dreno através do xilema e do floema. (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2003.)

O floema não é uniforme em todas as partes da planta. Nas nervuras foliares, por exemplo, as células crivadas são bem menores do que as células do parênquima vascular.

CONSTITUIÇÃO DOS ELEMENTOS CRIVADOS E CÉLULAS COMPANHEIRAS

Os elementos crivados (EC)

A estrutura dos elementos crivados foi descrita inicialmente por Hartig, em 1860. Os elementos crivados são formados por células extensamente modificadas; quando o sistema está completamente desenvolvido (as células do floema estão maduras), elas passam por grandes alterações.

Durante o processo de diferenciação, as células dos EC sofrem um processo de autólise incompleta. Células do floema geralmente perdem o núcleo e o tonoplasto, depois perdem os ribossomos e o complexo de Golgi. Assim, elas não podem executar algumas das funções essenciais das células vegetais. Entretanto, elas mantêm suas mitocôndrias, que podem apresentar características diferentes das mitocôndrias das outras células vegetais. As células dos EC mantêm também alguns plastídeos, o retículo endoplasmático liso e, claro, o que é fundamental para as funções que desempenham: a membrana plasmática, que vai formar um *continuum* com outras células adjacentes ao sistema crivado. As proteínas filamentosas (proteínas-P) entretanto persistem. O retículo endoplasmático é modificado, formando uma rede de microtúbulos e cisternas conhecidas como *retículo do vaso crivado* (RVC).

Esse RVC, juntamente com as mitocôndrias, as proteínas-P e os plastídeos, formam um sistema que se chama camada parietal ou lâmina parietal. Essa lâmina parietal forma uma camada que reveste a parede interior das células dos elementos crivados, restando um grande espaço central que forma o lúmen do sistema de elementos crivados. Há extensões macromoleculares de aproximadamente 7 nm que prendem o retículo endoplasmático, as mitocôndrias e os plastídeos entre si e os ancoram na membrana plasmática (van Bel *et al.*, 2002).

No processo de autólise parcial e reorganização do citoplasma, as células dos elementos crivados perdem também a capacidade de transcrição e tradução gênica. A síntese das proteínas de que essas células necessitam passa a ser feita pelas células companheiras.

As células companheiras têm os seus citoplasmas enriquecidos das organelas, que faltam às células dos elementos crivados. Outra característica das células dos elementos crivados é que a plasmalema de uma célula forma um *continuum* com a plasmalema das células adjacentes. Esse processo de diferenciação independe da presença das CC, visto que ocorre no protofloema da raiz, onde as CC não se desenvolvem.

A característica principal das células dos elementos crivados é a presença, longitudinalmente, de poros, que são parte de uma placa crivada (áreas crivadas) (Fig. 6.3). Esses poros na parede

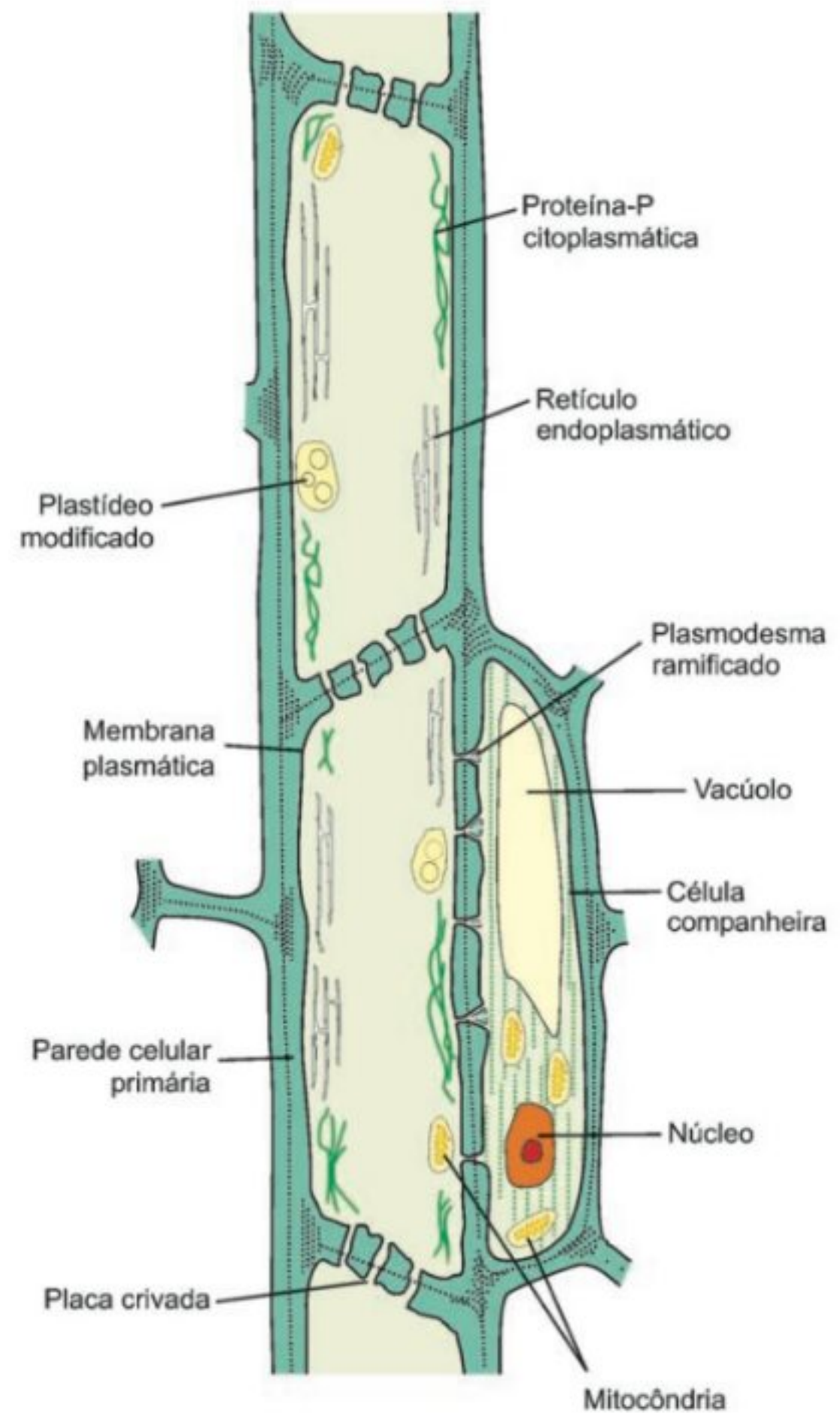


FIGURA 6.3

Constituição dos elementos crivados e células companheiras. (Adaptada de Taiz e Zeiger, 2003.)

celular, com diâmetros que variam entre 1 e 15 μm , permitem formar conexões entre as células do sistema. Esses poros têm origem nas passagens dos plasmodesmas entre as células. Ocorre um alargamento gradual dessas passagens, até que os poros se formam. A celulose e outros elementos típicos da parede celular são substituídos por calose. A calose aos poucos vai sendo eliminada, dando lugar aos poros das placas crivadas.

Os elementos crivados apresentam, em geral, curta vida útil. Ao longo do tempo, eles acabam sendo bloqueados pelo acúmulo de calose. À medida que as células dos elementos crivados vão sendo assim destruídas, outras células vão sendo diferenciadas, de modo que o transporte não sofre descontinuidade. Deve-se ressaltar, entretanto, que, embora a vida curta seja uma regra geral, já foram observados, em dicotiledôneas, elementos crivados que permaneceram funcionais por períodos de até 10 anos.

A diferenciação dos elementos crivados ocorre desde o início da diferenciação dos tecidos abaixo do meristema apical. Esses elementos, no início da diferenciação, são conhecidos como proto-

floema. Esses elementos condutores (protofloema), embora ainda em fase inicial de diferenciação, já podem ser usados intensivamente pelas plantas no transporte de nutrientes para os tecidos vegetais em desenvolvimento.

As células companheiras (CC)

Cada uma das células dos elementos crivados está conectada a uma ou mais células companheiras (Fig. 6.3). As células companheiras, ao contrário das células do sistema crivado, são ricas em organelas, principalmente das organelas que estão ausentes nas células do sistema crivado. É interessante notar que, embora com características tão diversas, ambas (células dos elementos crivados e células companheiras) são originárias da divisão de uma mesma célula-mãe.

Embora se originem de uma mesma célula-mãe, as CC não são sempre necessárias. No protofloema das raízes e no sistema EC de folhas de gramíneas com paredes celulares espessas, não existem CC.

As células companheiras e as células dos elementos crivados têm, através das paredes celulares, um sistema ramificado de comunicações, denominado *plasmodesma*, que permite uma intensa comunicação e troca de substâncias entre elas (Fig. 6.3). O arranjo é bem funcional, pois, enquanto as células companheiras ricas em organelas podem sintetizar uma série de substâncias e compostos de alta energia como o ATP, que podem ser rapidamente transferidos através do plasmodesma para as células dos elementos crivados, essas, por sua vez, concentram o seu metabolismo nas atividades que são essenciais ao transporte de fotossintatos. A maior parte da atividade metabólica necessária à manutenção das células do tipo elemento crivado é feita pelas células companheiras. É preciso ressaltar, entretanto, que, ao contrário do que ocorre com as células do xilema, as células dos elementos crivados estão vivas, e suas paredes celulares não são lignificadas.

Algumas células companheiras especializaram-se no transporte, através do desenvolvimento de invaginações ou reentrâncias da parede celular, e são por isso chamadas de células de transferência. As reentrâncias, ou invaginações, da parede celular aumentam a superfície da membrana e, portanto, a superfície de absorção. Em *Vicia faba*, essas invaginações aumentam em 209% a superfície total da membrana (Giaquinta, 1983). Esse grande aumento de superfície das células companheiras/células de transferência também aponta para as células companheiras como o sítio primário de carregamento do floema.

As invaginações aumentam muito a área de contato entre o apoplasto e a membrana das células. Esse aumento de superfície é importante quando o deslocamento de açúcares desde as áreas de produção é feito pelo apoplasto.

Nas espécies que têm células de transferência, Turgeon (1991) propõe um modelo, chamado armadilha de polímeros. De acordo com esse modelo, a sacarose difunde-se das células do parênquima vascular para as células intermediárias via simplasto e a favor de um gradiente de concentração. Nas células de transferência, a sacarose é polimerizada, dando lugar à formação de oligossacarídeos, como a rafinose e a estaquiose, que se acumulam em níveis elevados nessas células (Fig. 6.4). Como esses oligossacarídeos têm um volume muito maior do que o da sacarose, eles não conseguem se difundir de volta para as células do mesófilo, ficando retidos nas células de transferência.

VIAS APOPLÁSTICA E SIMPLÁSTICA

Para melhor entender o processo de deslocamento de nutrientes nas plantas, é necessário conhecer o caminho que esses nutrientes percorrem antes de chegarem à área vascular, ou seja, antes de entrarem na corrente do xilema e no sistema crivado de transporte do floema.

Tanto nas raízes quanto na parte aérea, nutrientes e água podem deslocar-se desde a parte mais externa (epiderme) até

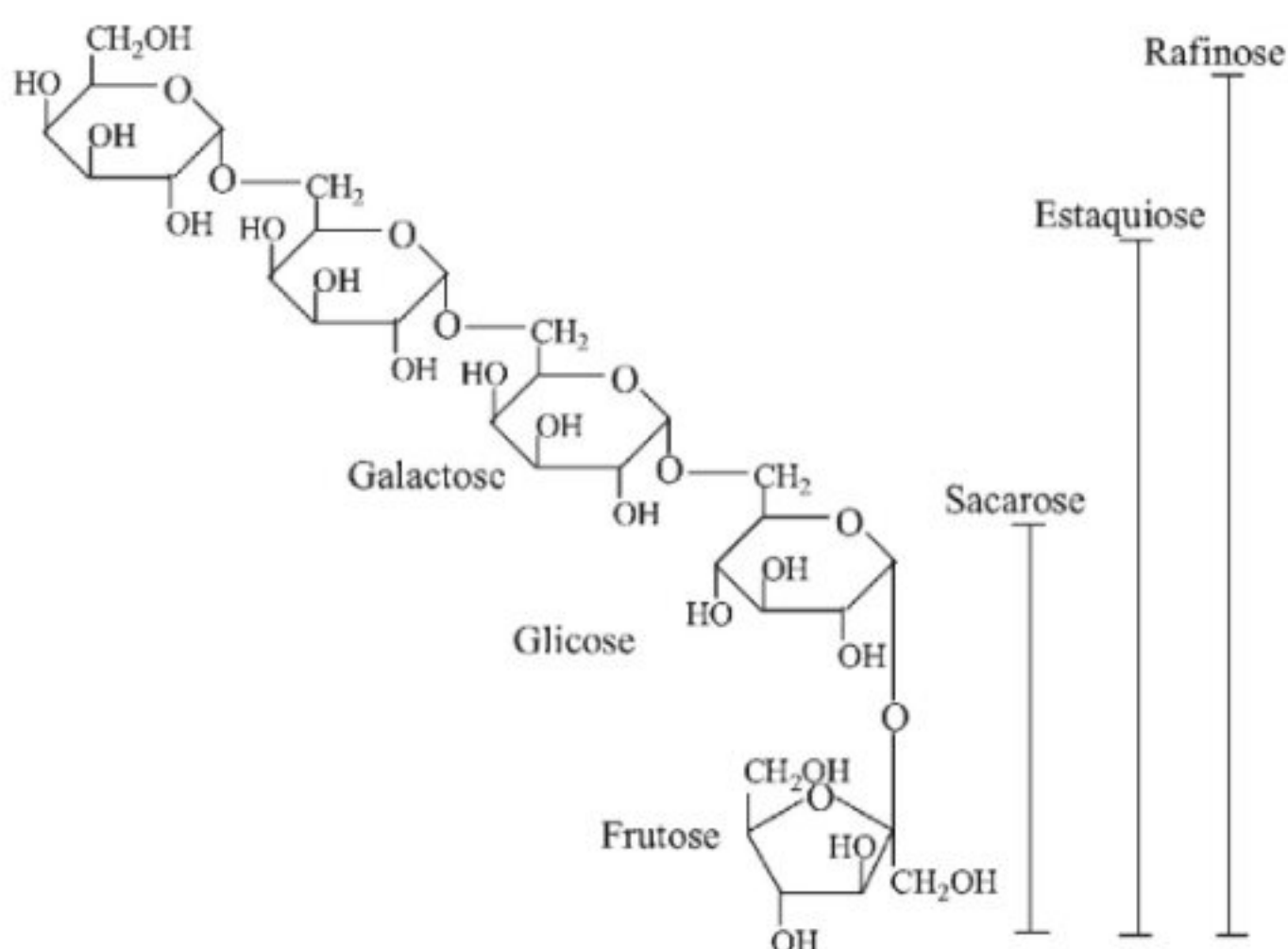
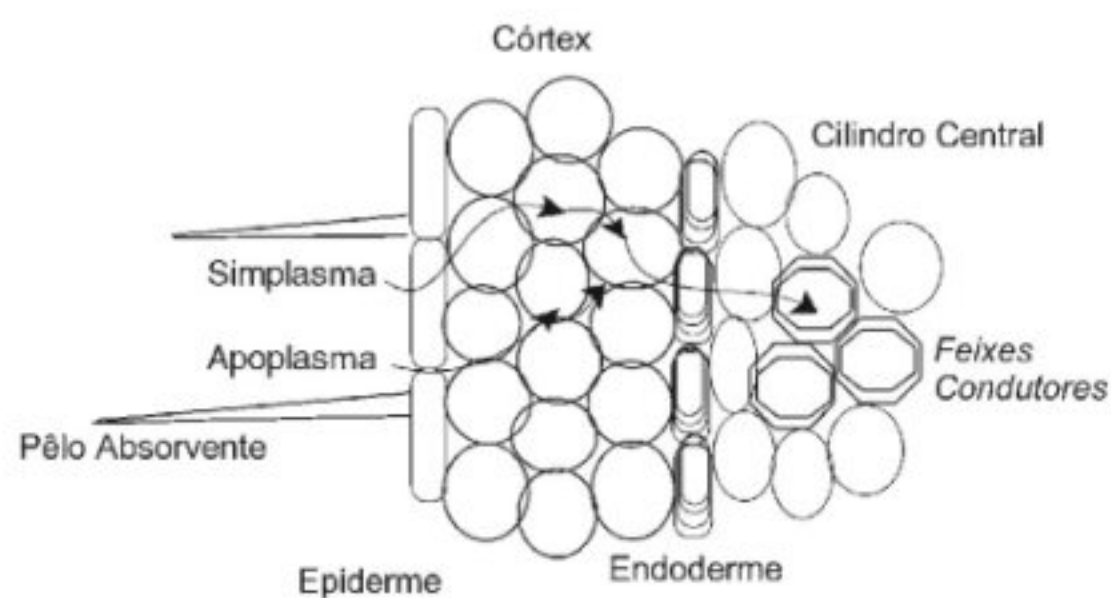


FIGURA 6.4

Variedade de açúcares encontrados na seiva do floema: monossacarídeos (galactose, glicose e frutose), dissacarídeo (sacarose), oligossacarídeos (rafinose e estaquiose).

**FIGURA 6.5**

Corte radicular transversal mostrando o apoplasma e o simplasma através das células do córtex e endoderme.

o parênquima vascular, tanto por via apoplástica como por via simplástica (Fig. 6.5).

Apoplasma

O apoplasma compreende a soma dos espaços intercelulares e espaços formados por macro- e microporos da parede celular. Esse espaço, chamado por aqueles que trabalham com fisiologia vegetal de *apoplasma*, é o mesmo espaço descrito pelos que trabalham com nutrição mineral de plantas como *espaço livre aparente* (Fig. 6.6).

Em parte desse espaço, como nas áreas intercelulares, o deslocamento de solutos com carga de qualquer sinal ou de solutos eletricamente neutros, como a sacarose, é livre. Esse espaço é chamado de espaço livre de água. Nos poros da parede celular, entretanto, o depósito de ácidos orgânicos (poligalacturônicos) sobre os feixes de microfibrilas (basicamente formados de celulose e hemicelulose) gera uma superfície de cargas fixas que formam o *espaço livre de Donnan*.

Enquanto água e íons circulam livremente no espaço livre de água, no espaço livre de Donnan apenas água e sacarose circulam livremente, enquanto ânions e cátions têm seus movimentos restritos, dependendo do sinal do poro e dos íons (\pm) e intensidade da carga.

Açúcares como a sacarose, que são produzidos nas células do mesofilo, deslocam-se para fora desta atravessando a membrana plasmática e circulando no espaço livre (apoplasma). Esse movimento no apoplasma pode ocorrer desde as células do mesofilo até as células companheiras ou as células do elemento crivado. Esse seria um movimento totalmente apoplástico.

Simplasma e plasmodesma

A outra forma de deslocamento de nutrientes é a que ocorre célula a célula, através de conexões entre os protoplastos, chamadas de plasmodesma (Fig. 6.7). Nesse caso, tanto os açúcares como os nutrientes minerais como o K^+ podem deslocar-se livremente sem que ocorram interações do tipo das que ocorrem no espaço livre de Donnan.

Plasmodesmas são pequenos poros, com diâmetros em torno de 20 a 60 nm. Eles são revestidos por uma membrana plasmática e contêm um tubo central, denominado desmotúbulo. O desmotúbulo é uma continuação do retículo endoplasmático.

A comunicação via plasmodesmas entre os elementos crivados e as células companheiras são diferentes de outros plasmodesmas, pois eles formam um canal tipo poro do lado do elemento crivado e múltiplos canais de menor diâmetro do lado da célula companheira (Ayre *et al.*, 2003).

As conexões célula a célula via plasmodesmas permitem que ocorra o transporte através dos protoplastos, denominado de via simplástica (Fig. 6.7). É necessário, portanto, que as células companheiras tenham ligações em quantidade suficiente com as outras células ao longo da via de transporte. Ou seja, a viabilidade do transporte via simplástica depende da intensidade das conexões via plasmodesmas entre as superfícies de células adjacentes ao longo do contínuo mesofilo \rightarrow sistema crivado. Presume-se que quanto maior o número de conexões plasmodésmicas entre as células, maior o potencial de transporte na interface.

Sobre o plasmodesma, Gunning (1976) observou: “O plasmodesma eleva a planta da condição de simples coleção de células individuais para uma comunidade de protoplastos vivos e interconectados”.

A frequência dos plasmodesmas nas células que executam transporte simplástico está em torno de 15 por micrômetro quadrado (μm^2) de superfície celular.

Em células do mesofilo em *Oenothera*, foi calculado que o plasmodesma ocupa 0,38% das paredes celulares adjacentes, com uma frequência de 300 μm^2 por parede. A magnitude do fluxo de açúcares através do plasmodesma, em poros com comprimento de 0,5 e 20 nm de diâmetro, seria então de $3,8 \times 10^{-21} \text{ mol/s}^{-1}$.

Na planta C_4 *Salsola ali*, a frequência de plasmodesma é de $14 \times 10^8 \text{ cm}^{-2}$ de parede celular. Isso significa que 0,1% da parede celular tangencial é ocupada com os canais dos plasmodesmas.

Plantas como *Vicia*, beterraba e milho apresentam pouca ligação direta entre as células do mesofilo e as células do complexo EC/CC via plasmodesma, enquanto, em outras plantas, como *Cucurbita pepo*, há maior número de conexões entre essas células.

Entretanto, essa divisão das plantas entre as que têm muita e as que têm poucas conexões entre as células do mesofilo e o complexo EC/CC não é um parâmetro absoluto, porque pode haver continuidade de ligações entre esses dois extremos (mesofilo e EC/CC) e as células do parênquima vascular e parênquima do floema e mesofilo.

O que se verifica é que a frequência de conexões entre o complexo crivado e as células adjacentes pode variar muito. Em algumas espécies existe uma frequência muito grande de plasmodesmas fazendo a ligação célula-célula, enquanto, em outras espécies, essa frequência pode ser muito pequena ou mesmo nula.

O pesquisador russo Gamalei (1991) e cols. propõem, para plantas dicotiledôneas, uma divisão em quatro categorias, de acordo com a frequência das ligações via plasmodesmas entre as células do *complexo crivado* e as células adjacentes:

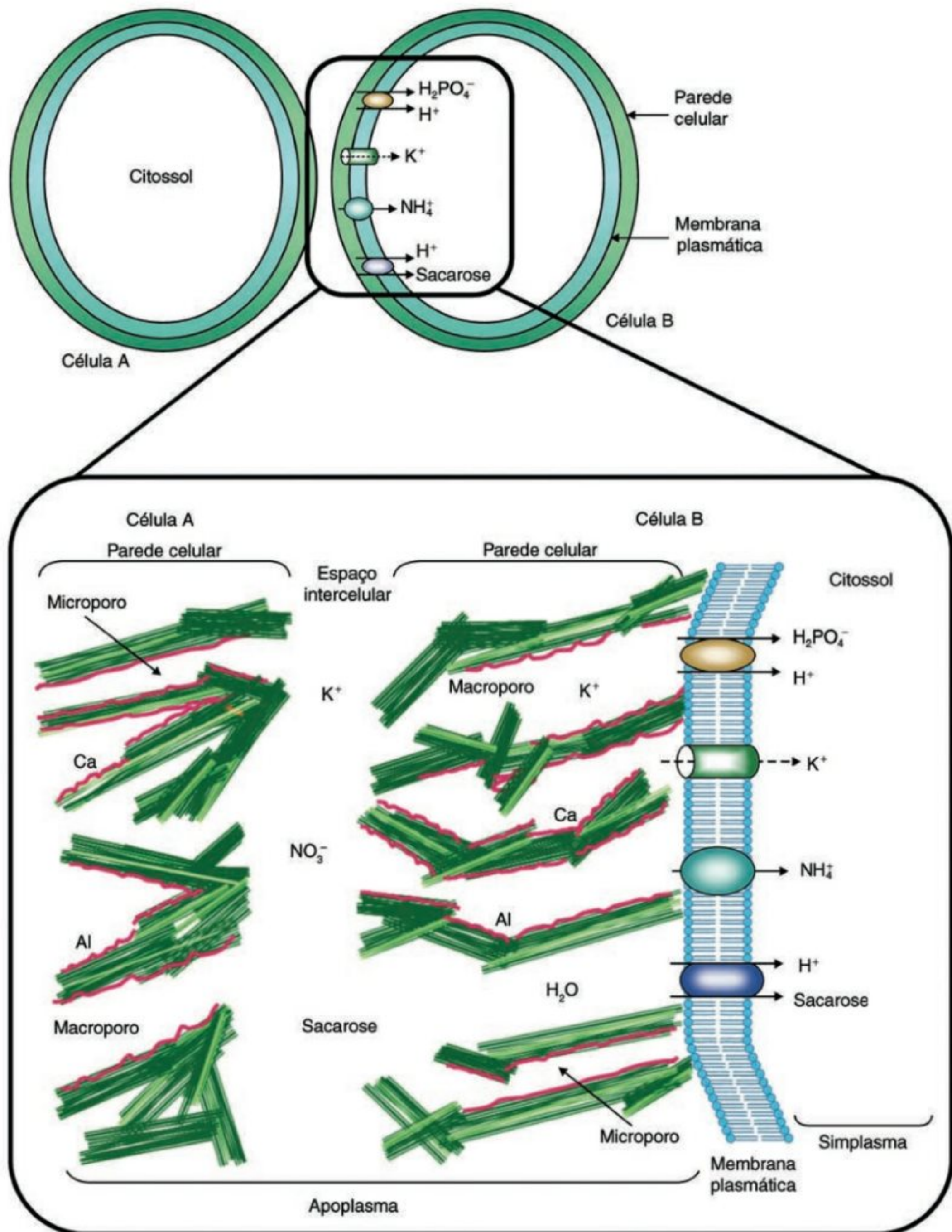
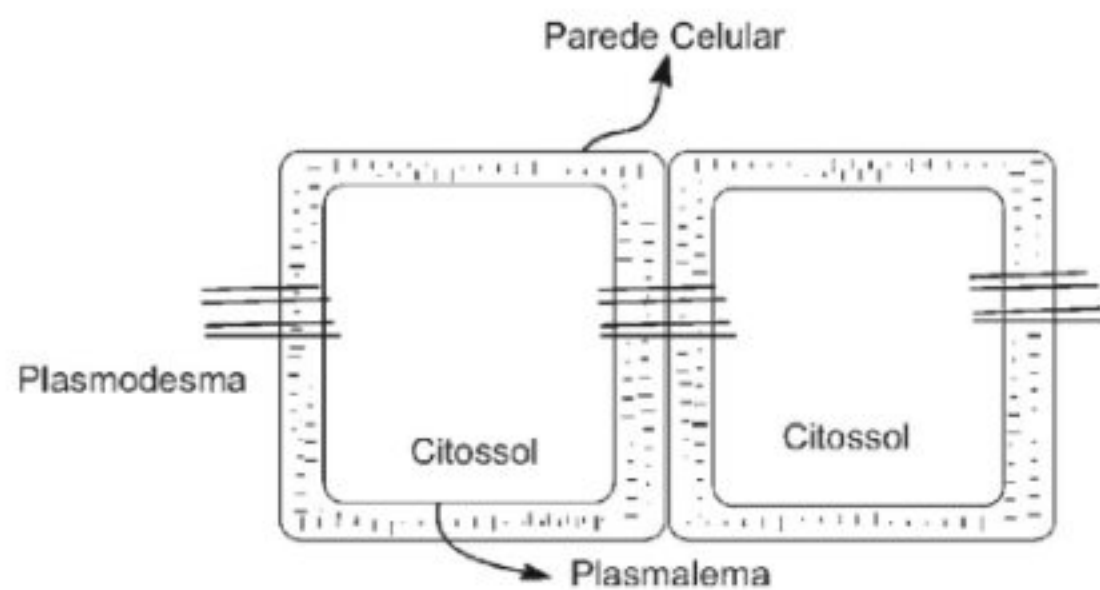


FIGURA 6.6

Representação do simplasma (limitado pela membrana plasmática) e do apoplasma das células vegetais formado pelos espaços intercelulares e pelo conjunto de macro- e microporos da parede celular. (Adaptada de Fernandes e Souza, 2006.)

- Células do **tipo 1** — Exibem uma grande quantidade de conexões.
- Células do **tipo 2** — Exibem uma quantidade moderada de conexões.
- Células do **tipo 2a** — Exibem ligações esporádicas entre células.
- Células do **tipo 2b** — Praticamente não exibem contato entre células do EC/CC e as células adjacentes.

**FIGURA 6.7**

Plasmodesma unindo o citossol de duas células através da plasmalema e parede celular.

A frequência de contatos via plasmodesmas entre cada categoria pode variar em torno de 10 vezes, o que pode resultar em variações de até 1.000 vezes na frequência de ligações plasmodesmáticas entre famílias de dicotiledôneas.

As características das células companheiras também mudam de acordo com o tipo de transporte — simplástico ou apoplástico — que as plantas fazem.

A estrutura e o funcionamento metabólico das células companheiras são determinantes do tipo de carregamento do floema (simplástico ou apoplástico).

Pelo menos dois tipos de estruturas estão bem caracterizadas:

- **Estrutura 1** — as células companheiras não têm cloroplastos e apresentam uma extensa rede de retículo endoplasmático.
- **Estrutura 2** — as células companheiras são menores e contêm vacúolos e cloroplastos. Esse grupo pode apresentar uma variante que se caracteriza por uma abundância de invaginações na parede celular.

Em geral, as células companheiras que apresentam **estrutura 1** estão envolvidas em transporte via simplástica. Células companheiras de **estrutura 2** estão envolvidas em transporte via apoplástica.

Famílias que apresentam **estrutura 1** transportam açúcares via simplástica na forma de oligossacarídeos, principalmente rafinose, enquanto famílias de **estrutura 2** transportam açúcares via apoplástica sob a forma de sacarose.

Transporte intermediário

Pode também ocorrer um tipo intermediário de deslocamento em que os nutrientes percorrem parte do trajeto entre o mesofilo e as células crivadas por via simplástica e parte do trajeto por via apoplástica, saindo do sistema de transporte célula a célula em algum ponto antes de chegarem às células companheiras ou crivadas. Tanto nesse caso como no caso de transporte totalmente por via apoplástica, os nutrientes precisam voltar ao interior das células (companheiras ou elementos crivados) para seguirem então se deslocando via simplástica até chegarem ao floema.

CARREGAMENTO E DESCARREGAMENTO DO FLOEMA

Entende-se por *carregamento do floema* todo o trajeto que os solutos fazem desde as células do mesofilo até o sistema de elementos crivados. Quando falamos em *carregamento dos elementos crivados*, estamos nos referindo exclusivamente ao carregamento de foto-assimilados no sistema de elementos crivados, que compreende o conjunto formado pelas células companheiras e elementos crivados (CC/EC).

Não existe uma única maneira de carregamento do floema, o qual varia de acordo com as diversas famílias vegetais, podendo ser apoplástico, simplástico ou intermediário, combinando essas duas estratégias. A variação do carregamento do floema tem certamente um significado expressivo do ponto de vista ecofisiológico, e é importante para a produção vegetal. O uso de uma ou outra estratégia de carregamento, ou da combinação de ambas, reflete as condições ambientais em que os diversos grupos de plantas se desenvolveram.

O carregamento do sistema de elementos crivados pode ser feito de duas maneiras. Uma delas é através do deslocamento de solutos desde as células que circundam o sistema vascular até as células companheiras, e das células companheiras até as células crivadas através dos plasmodesmas. Nesse caso, existe uma continuidade entre essas células. Esta seria a via simplástica de carregamento do sistema crivado.

Uma outra maneira de carregamento do sistema de elementos crivados é a apoplástica. Nesse caso, os solutos se deslocam no apoplasma (espaço livre) e entrariam no sistema por transporte através da membrana plasmática de uma célula companheira ou diretamente, através da plasmalema de uma célula crivada.

A Fig. 6.8 mostra esquematicamente os dois sistemas de transporte de solutos e carregamento do floema. As setas com traço forte no interior das células mostram o caminho que os solutos podem percorrer desde a área de síntese, onde ocorre a redução fotossintética do CO_2 (células à esquerda, em azul), até a área vascular (células à direita, em laranja).

Açúcares e outros nutrientes deslocam-se das células do mesofilo, onde ocorre a redução de CO_2 , para as outras células via plasmodesma. Num dos casos (setas mais largas), o deslocamento é todo feito por via simplástica. Uma outra possibilidade, entretanto, é que, em algum ponto do percurso (a célula do parênquima do floema indicada na Fig. 6.8), açúcares possam sair do interior das células para o apoplasma. Posteriormente, esses solutos, que agora se deslocam por via apoplástica, podem retornar ao interior de outras células para o carregamento do floema. Essa entrada de solutos a partir do apoplasma pode, em algumas espécies vegetais, ser feita através da plasmalema de uma célula companheira, enquanto, em outras espécies, essa passagem para o interior ocorre diretamente nas células crivadas.

Quando, entretanto, estamos nos referindo ao transporte de fotoassimilados em todo o sistema (desde o mesofilo), o carregamento do floema só pode ser considerado simplástico se houver ligação (continuidade) de todo o simplasma, desde as células do mesofilo até as células companheiras. No caso de não existir essa

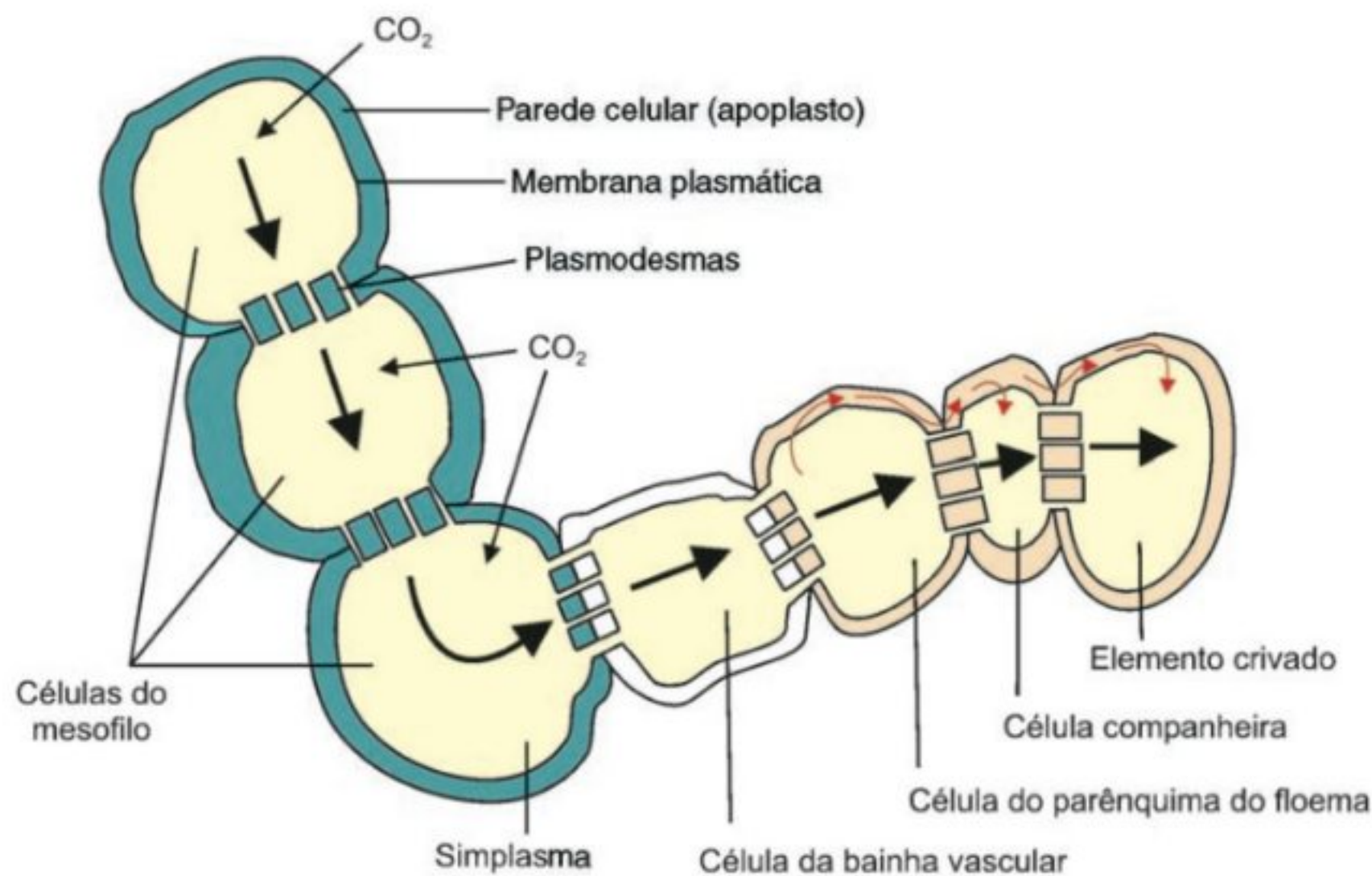
**FIGURA 6.8**

Diagrama esquemático da possível via de carregamento do floema em células foliares-fonte. (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2003.)

continuidade, o sistema de carregamento é considerado apoplástico. É possível que, em determinado sistema, parte do percurso dos fotoassimilados seja feita por via simplástica, mas em algum ponto as conexões via plasmodesmas sejam interrompidas e os fotoassimilados descarregados no espaço livre aparente e, depois, recarregados em outra célula de onde passam por via simplástica para as células companheiras. Nesse caso, o carregamento do floema é também considerado apoplástico. O carregamento só é considerado realmente por via simplástica quando todo o percurso está conectado pelo plasmodesma. Essa diferenciação deve ser feita porque, em algumas plantas, o transporte de solutos pelas células CC/EC é feito por via simplástica, enquanto o carregamento do floema é por via apoplástica.

O carregamento de açúcares no floema tem lugar basicamente nas pequenas nervuras das folhas, que, às vezes, anastomosam, formando uma rede capilar. Essas nervuras podem ser classificadas em:

- **Nervuras do tipo 1:** onde as células companheiras têm uma grande superfície de retículo endoplasmático, não têm cloroplastos, e plastídeos estão ausentes ou em pequena quantidade.
- **Nervuras do tipo 2a:** onde as células companheiras são menores, contêm vários pequenos vacúolos e têm cloroplastos.
- **Nervuras do tipo 2b:** onde as células companheiras especializadas em transporte (células de transferência) geralmente desenvolvem invaginações da parede celular.

As nervuras dos tipos 1, 2a e 2b surgem em seqüência, ao longo do processo evolutivo. Pequenas áreas (aréolas) são demarcadas por essa rede de nervuras. Esse sistema é altamente eficiente na coleta de fotoassimilados que são produzidos no mesofilo foliar.

Geiger (1980) observou que a beterraba açucareira tem 70 cm dessa rede capilar por cm^2 de lâmina foliar. Esse autor também observou que 33 μm lineares da rede capilar podem coletar os fotoassimilados produzidos por 29 células do mesofilo.

As configurações das pequenas nervuras, que determinam o modo de carregamento do floema, aparecem preferencialmente em determinadas zonas climáticas. De modo geral, o carregamento do floema por via apoplástica predomina nas regiões de clima temperado e em climas áridos. O carregamento do floema por via simplástica é predominante nas regiões tropicais úmidas.

A maioria das plantas herbáceas, que se originaram em regiões de clima temperado, pertence ao grupo que transporta solutos para o sistema CC/EC pela via apoplástica. Nessa relação, encontra-se a maioria das plantas cultivadas. Nessas plantas, os açúcares podem entrar no sistema crivado diretamente do apoplasto.

A análise molecular mostrou que, no caso dessas espécies que apresentam transporte apoplástico, a ação do gene *sut1* (*sucrose transporter 1*) que codifica o transportador de sacarose na plasmalema aparece diretamente na membrana plasmática das células do EC. Por outro lado, no caso de espécies com sistema de transporte por via simplástica, os transportadores de sacarose (*SUC2*: *sucrose*) estão associados com a enzima invertase (que hidrolisa a sacarose em glicose e frutose) e estão localizados nas células companheiras (CC), mas não nas células do EC. A localização das H^+ -ATPases nas CC e EC segue tendência semelhante à dos transportadores de sacarose.

Nas espécies que transportam açúcares via simplástica, cujas H^+ -ATPases estão localizadas na plasmalema das CC, ocorre um grande transporte de estaquiose e rafinose, principalmente nas chamadas células intermediárias (CI).

No caso desses transportadores simplásticos, a sacarose entra nas células companheiras (CC) a partir das células do feixe

vascular. Uma vez no interior das CC, ocorre a formação em oligossacarídeos da família da rafinose (rafinose, estaquiase). Esses polímeros são muito grandes e não passariam através dos poros do plasmodesma, o que impediria seu retorno ao sistema transportador. Assim, o transporte de açúcares no simplasma seria unidirecional (mesófilo → complexo crivado), e contra o gradiente de concentração total de açúcares (Fig. 6.8). Desse modo, a polimerização funciona como uma armadilha para açúcares, que retém os polissacarídeos nas células companheiras contra um gradiente de concentração, o que torna o carregamento do floema menos eficiente nas plantas que transportam os fotoassimilados via simplástica. Em consequência, o deslocamento do carbono por unidade de massa das folhas é maior nas espécies que exibem carregamento do floema por via apoplástica.

Verifica-se, entretanto, que a natureza do carregamento do floema não depende apenas da existência ou não de ligações abundantes através de plasmodesmas. O tipo de metabolismo das células companheiras e células adjacentes é fundamental nesse processo. Numa escala de evolução, o modo de carregamento por via simplástica é o mais antigo, tendo os outros sistemas evoluído posteriormente.

TRANSPORTE DE SACAROSE

O transporte de sacarose desde o apoplasma para o interior das células companheiras ou dos elementos crivados é feito contra um gradiente de concentração. Para que ocorra esse transporte, é necessário um gasto de energia, ou seja, é um sistema de transporte ativo.

No caso de moléculas que não têm carga elétrica, como é o caso da sacarose ou da glicose, o cálculo da energia necessária para executar esse tipo de trabalho é obtido pela equação de Nernst.

$$\Delta G = RT \ln \frac{[\text{concentração interna}]}{[\text{concentração externa}]}$$

onde:

ΔG é variação de energia livre do sistema

R é a constante dos gases

T é a temperatura absoluta

Para o transporte de glicose contra um gradiente de 1:10, a variação de energia livre seria:

$$\Delta G = 1,98 \times 293 \times \ln \frac{0,1}{0,01}$$

$$\Delta G = 1,34 \text{ kcal/mol}$$

Para uma relação de concentração de

$$1:100 \Delta G = 2,68 \text{ kcal/mol}$$

$$1:1.000 \Delta G = 4,02 \text{ kcal/mol}$$

Vale lembrar que a hidrólise de 1 mol de ATP (ATP + HOH → ADP + Pi) produz 7,3 kcal.

A absorção de sacarose pelas células do complexo CC/EC segue o modelo de Michaelis-Menten, isto é, apresenta cinética de saturação. Mostra também um sistema dual de absorção, e o componente de alta afinidade mostra cinética de saturação, enquanto o componente de baixa afinidade aparentemente não é saturável. O primeiro componente opera em concentrações baixas de sacarose, provavelmente iguais às que ocorrem normalmente no apoplasma. O segundo componente opera nas concentrações mais elevadas. Em ambos os casos, os dados indicam uma absorção via simporte (sacarose-próton). No caso do sistema de alta afinidade, a estequiometria (sacarose:próton) do sistema seria de 2:1 (em concentrações menores que 5 mol m⁻³). No segundo caso (concentrações entre 5 e 15 mol m⁻³), a relação muda para 6:1.

É interessante ressaltar que todos os transportadores de sacarose identificados até aqui são co-transportadores (sacarose/H⁺). O K_m aparente para sacarose nesses transportadores está na faixa de 1 mM, e a estequiometria do co-transporte é de 1:1.

Não está esclarecido ainda se as células crivadas têm ou não bombas iônicas de extrusão de H⁺ na membrana plasmática. No caso das células companheiras, entretanto, já foi localizado um gene que codifica para H⁺-ATPases (bombas de prótons). Entretanto, é bom ressaltar que a concentração de ATP (substrato para as H⁺-ATPases) no sistema crivado é bem elevada, geralmente em torno de 1 mM.

Bombas de prótons

As bombas de prótons são transportadores de íons específicos para prótons, funcionando com energia metabólica da hidrólise de ATP. Elas podem ser descritas como próton-ATPases (H⁺-ATPases). O transportador, estimulado pela presença de H⁺ no meio interno, usa a energia gerada pela hidrólise do ATP para mudar de estado energético, liga-se ao H⁺ e o bombeia para o meio externo, independentemente de troca por outro cátion (do meio externo). É, portanto, um sistema de transporte unidirecional chamado *uniporte* (Fernandes e Souza, 2006).

Uma transferência unidirecional de cargas gera eletronegatividade (pois não ocorre transporte simultâneo de outro cátion de fora para dentro, de modo que a diferença de carga positiva pudesse ser compensada no interior negativo). Desse modo, quando um microeletrodo for inserido na célula, fazendo conexão com o meio externo, aparece uma corrente. Ao potencial que é gerado entre o interior e o exterior da célula, através da plasma-lemma, chamamos *potencial da membrana* (C). O bombeamento de prótons por esse sistema gera, do interior para o exterior da célula, uma força protoniônica.

A força protoniônica pode ser calculada a partir da equação:

$$\Delta p = \Psi - 2,303 \frac{RT}{F} \Delta \text{pH}$$

A diferença de potencial eletroquímico para prótons ($\Delta \mu_{\text{H}^+}$) é função da diferença de pH (ΔpH) e da diferença de poten-

cial através da membrana (ΔC). Assim, ambos, ΔpH e $\Delta \Psi$, são capazes de energizar o transporte. Entretanto, o transporte é otimizado em ambiente ácido. Como o pH do apoplasto é geralmente ácido (5,0 a 6,0), e o K_m para H^+ baixo, a protonação do carregador dificilmente seria um fator limitante do transporte.

Cátions podem ser absorvidos, via transportadores de íons, a favor de um gradiente de potencial eletroquímico. Entretanto, ânions, aminoácidos e açúcares são absorvidos contra um gradiente de potencial eletroquímico ou contra um gradiente de concentração.

São os gradientes protoniônicos que permitem o transporte (simporte) de sacarose e de monossacarídeos contra elevados gradientes de concentração.

O transportador de sacarose (SUT1, *sucrose transporter 1*) já foi localizado ao longo de todo o floema, desde as regiões-fonte até as regiões-dreno. Do mesmo modo, já foi localizada no floema uma isoforma da H^+ -ATPase específica da membrana plasmática.

A sacarose é transportada para dentro das células companheiras por co-transporte com prótons (simporte). O transporte de sacarose nessas circunstâncias mostra cinética de saturação com o aumento da concentração de sacarose. Foi observado um K_m aparente para sacarose de 1 mM, enquanto o K_m aparente para H^+ é apenas de 0,7 μM .

Existe especificidade de transporte para a sacarose. O transporte de sacarose via co-transporte é eletrogênico, mesmo sendo a sacarose uma molécula neutra.

A evidência mais notável do co-transporte de H^+ e sacarose é a indução pela sacarose do influxo de H^+ no floema.

O transporte (influxo) eletrogênico de H^+ via co-transporte (H^+ /sacarose) causa uma despolarização nas membranas das células do floema, e, como consequência, ocorre um efluxo de K^+ , cujos teores são normalmente elevados no floema.

Ocorre uma substancial redução no carregamento de sacarose no floema quando o apoplasto sofre uma variação (aumento) de pH. Em beterraba açucareira, foi observada uma redução de cerca de 40% no carregamento do floema quando o pH externo variou de pH 5,0 para pH 8,0.

Vários pesquisadores observaram que a adição de sacarose aos cotilédones de *Ricinus* provocou um aumento de pH do meio externo de 0,1 a 0,2 unidade de pH. O pH volta aos valores originais cerca de meia hora após a retirada da sacarose do meio.

A estequiometria do processo de co-transporte, observada em *Ricinus*, foi de 3 H^+ /sacarose.

Quando é feita a perfusão do sistema vascular com sacarose (25 mM), ocorre um aumento do pH da solução (perfusato). Essa alcalinização (0,6 a 0,9 unidade de pH) é temporária, ocorrendo o retorno ao pH original em torno de 30 a 60 minutos após o início do processo. De várias soluções de açúcares testadas nesses experimentos de perfusão (sacarose, manitol, glicose, frutose e galactose), apenas sacarose mostrou esse efeito sobre a variação do pH.

Os custos energéticos do transporte de sacarose podem ser estimados a partir da relação 1 ATP/sacarose. A estimativa desse autor é de que 0,3% do ATP derivado dos fotoassimilados seria usado nesse processo. Entretanto, cálculos feitos a partir do

consumo de O_2 no processo de absorção indicam uma estequiometria de 1,1 a 1,4 ATP/sacarose.

VISÃO GERAL DO CARREGAMENTO E DESCARREGAMENTO DO FLOEMA

No conceito inicial sobre transporte no floema proposto por Münch em 1930, os elementos crivados são vistos como um tubo longitudinal, impermeável, formado por seqüências de células dos EC, e onde ocorre um processo de fluxo de massa de solutos. Esse fluxo é dirigido por um gradiente de pressão que vai das regiões de maior concentração de solutos (fontes) para as regiões de menor concentração de solutos (drenos); entretanto, os EC não são condutores hermeticamente fechados, mas sim canais porosos, com entrada e retirada contínua de solutos (Thompson, 2006).

A absorção de sacarose pelos elementos crivados gera um gradiente de pressão hidrostática entre as áreas de carregamento e as áreas de descarregamento do floema, ou seja, entre fonte e dreno.

O aumento da pressão hidrostática nas áreas-fonte é também resultado da atividade de um outro tipo de proteína de transporte, as aquaporinas. Estas permitem que a água que circula na planta via xilema seja absorvida pelo floema. Outras substâncias, como aminoácidos e principalmente K^+ , também contribuem para a formação desse gradiente de pressão.

O enunciado de Münch tem levado à suposição, equivocada, de que o floema funcionaria como uma "mangueira de jardim", com a pressão distribuindo solutos igualmente ao longo do sistema. Entretanto, como observado por Thompson (2006), o floema é mais parecido com um "capilar", e a pressão de turgor a longa distância não pode ser usada para o controle do fluxo no floema.

O transporte a longa distância no floema está ligado a uma família de proteínas conhecidas como transportadores de açúcares. Análises moleculares com o gene *sut1* (*sucrose transporter 1*), que codifica para transportador de sacarose em fumo e batata-inglesa, mostraram que o carregamento do floema ocorre via transporte de reservas do apoplasto para os elementos crivados através da plasmalema, com mediação desses transportadores.

O complexo CC/EC, com as células companheiras ricas em citoplasma e organelas, é o local de carregamento do floema. Pesquisas com carbono marcado (^{14}C) mostraram que a cinética de aparecimento de sacarose marcada nas células companheiras é idêntica à cinética de exportação da sacarose nos elementos crivados. Por outro lado, a alta concentração de sacarose do complexo CC/EC, em torno de 0,3 a 0,8 M, aponta para o sistema CC/EC como o ponto de entrada de açúcares na célula.

O sistema CC/EC apresenta uma grande superfície de membrana, que permite o carregamento do floema. Em folhas de beterraba açucareira, o fluxo de açúcares para dentro do sistema foi calculado em 16 $\mu mol\ cm^{-2}\ s^{-1}$, o que permite os fluxos através do sistema de 3,2 μmol de sacarose por cm^2 por minuto (3,2 $\mu mol\cdot cm^{-2}\ s^{-1}$).

Na Fig. 6.8 é mostrado um esquema geral do carregamento e descarregamento do floema. Todo o processo tem início naturalmente com a fixação de CO_2 no cloroplasto das células do mesofilo. De lá, trioses-fosfato deslocam-se para o citossol, onde ocorre a síntese de sacarose. A sacarose presente no citossol pode ser deslocada para o vacúolo, onde é acumulada.

A energia para esse processo origina-se do gradiente de H^+ que é criado entre o vacúolo e o citossol, que aciona o sistema de transporte tipo antiporte (Fig. 6.9A).

A sacarose livre no citossol das células do mesofilo desloca-se para o apoplasto, de onde pode ser absorvida pelas células companheiras através de um sistema transportador via simporte. Novamente, são os gradientes de H^+ entre o apoplasto e as células companheiras que geram a energia para esse transporte. Observa-se ainda que, na Fig. 6.9, está indicada a possibilidade de absorção da sacarose do apoplasto diretamente para as células crivadas. A sacarose assim absorvida desloca-se então ao longo do sistema crivado, podendo eventualmente passar de novo para o apoplasto nas áreas próximas aos tecidos-dreno, graças aos grandes gradientes de sacarose formados entre o floema e o

apoplasto nessa área, como já descrito. As células da região-dreno podem então absorver diretamente a sacarose que foi deslocada para o apoplasto, via simporte, ou pode ocorrer a hidrólise do dissacarídeo com a formação de glicose e frutose, que podem igualmente ser absorvidas pelas células-dreno por co-transporte com um próton.

As trocas entre citossol e vacúolo nas células dos tecidos-dreno seguem o mesmo esquema, inclusive energético, descrito para as células do mesofilo.

A sacarose é sintetizada exclusivamente no citoplasma das células do mesofilo pela sintetase de sacarose-fosfato.

A transferência dessa sacarose é feita da seguinte maneira:

- entre células do mesofilo
- das células do mesofilo para a proximidade das nervuras
- das proximidades da nervura para as células do floema.

A Fig. 6.9 dá ênfase à idéia de que as pressões que se desenvolvem entre a fonte e o dreno, embora sejam extremamente importantes para o transporte de solutos no floema, não são suficientes para explicar o fenômeno do transporte na sua totalidade.

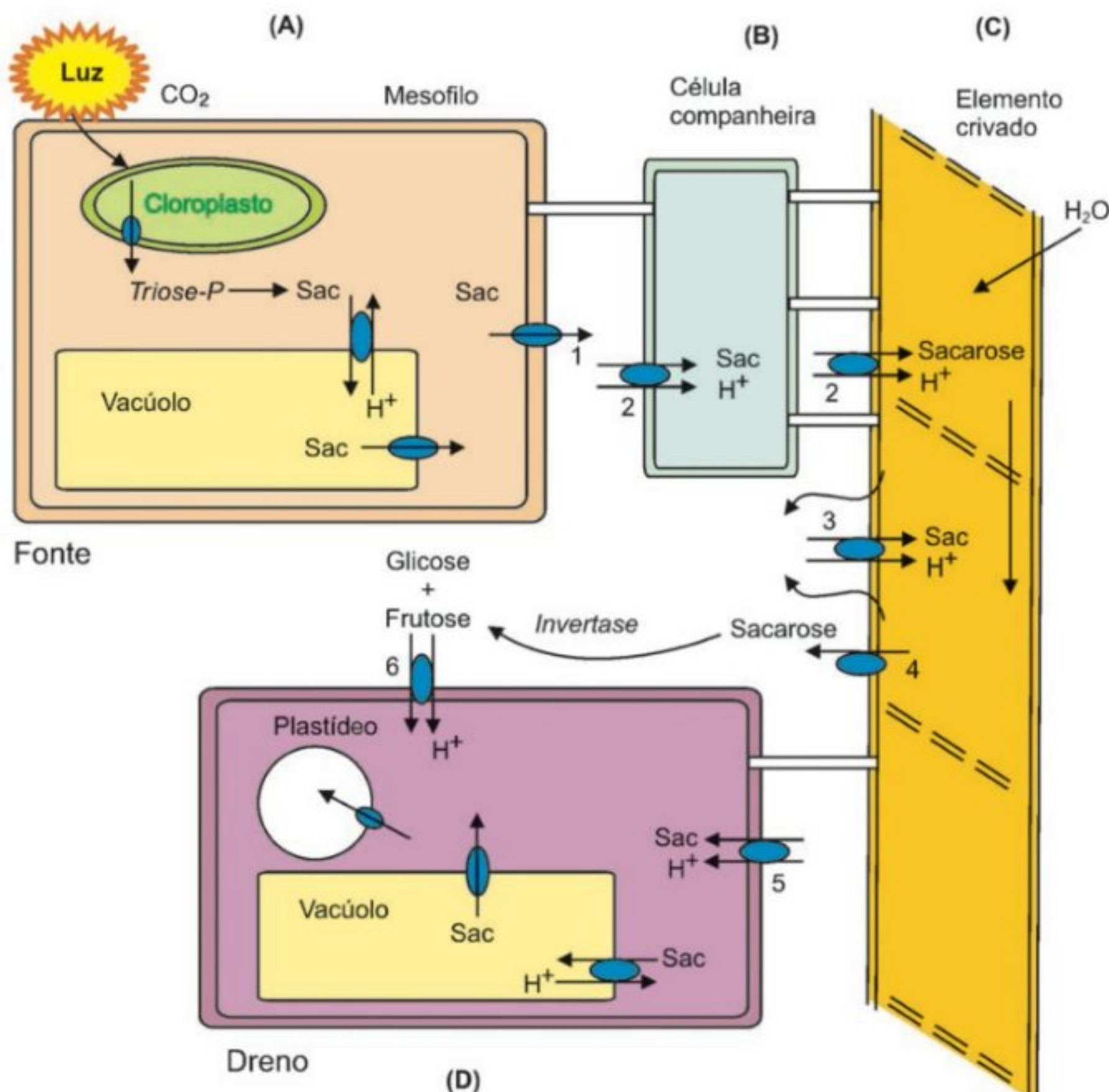


FIGURA 6.9

Esquema geral do carregamento e descarregamento do floema: (A) fonte; (B) célula companheira; (C) elemento crivado do floema; (D) dreno. (Adaptado de Lalonde *et al.*, 1999.)

O fluxo no floema é grandemente influenciado pelos mecanismos de carga e descarga de solutos e pelo influxo de água nas células do sistema crivado. Isso põe em evidência os mecanismos geradores de gradientes protoniônicos, em consequência da força próton-motriz ao longo de todo o sistema de transporte no floema. A síntese e atividade das proteínas de transporte e a disponibilidade de energia são fundamentais nesse processo.

O fluxo de sacarose a partir do complexo EC/CC até o apoplasma pode ocorrer por simples difusão, a favor de um gradiente de concentração. Isto é, alta concentração no sistema EC/CC e menor concentração no apoplasto.

Ao longo do floema pode haver deslocamento lateral de solutos em direção aos drenos axiais. A distribuição de solutos entre o sistema elementos crivados/células companheiras e o parênquima vascular depende do potencial de membrana através da plasmalema de cada um desses sistemas (Fig. 6.10).

Os fotoassimilados que se movimentam no floema podem sair do complexo elementos crivados-células companheiras (EC/CC) e circular pelo apoplasma, de onde podem ser transportados de volta ao sistema EC/CC ou podem ser transportados para o interior das células do parênquima vascular (PV). Hafke *et al.* (2005) em um experimento com plantas onde os solutos se deslocam principalmente por via apoplástica como *Vicia* e *Solanum*, ou com plantas onde os solutos se deslocam predominantemente por via simplástica, como *Curcubita* e *Ocimum*, observaram que a partição dos solutos do apoplasma entre as EC/CC e VP correlacionou-se fortemente com a força próton-motriz de cada um desses grupos de células. A componente principal da força próton-motriz nesse caso (a variação de pH é desprezível) é o potencial da membrana

(psi). Assim, quando a diferença do potencial da membrana entre os dois grupos de células é maior do que 1 ($dEC-CC/dPV > 1$) deve ocorrer uma intensa reabsorção dos solutos do apoplasma. Por outro lado, quando a relação é menor do que 1 ($dEC-CC/dPV < 1$) o acúmulo de solutos pelas células do parênquima vascular é predominante.

Estes resultados indicam que o deslocamento de fotoassimilados em direção aos drenos terminais (frutos, raízes etc.) é favorecido em plantas nas quais o transporte por via apoplástica é dominante. A Fig. 6.10 exemplifica essa situação.

O QUE É TRANSPORTADO

Açúcares

Embora no estudo do transporte de açúcares em plantas seja dada ênfase aos dissacarídeos, o transporte de monossacarídeos (glicose, frutose, manose e ribose) através da plasmalema de células vegetais tem sido observado. O primeiro gene que codifica para transportador de hexose clonado foi o *hup1* (*hexose transporter*). Como já comentamos, para que um sistema de transporte de hexoses tenha significado biológico, é necessário que ocorra, simultaneamente, a formação das invertases que transformam sacarose em glicose e frutose.

Quando se coletam exsudados do floema, encontram-se vários açúcares, tanto monossacarídeos (glicose, galactose, frutose) como dissacarídeos (sacarose) e oligossacarídeos (rafinose, estaquiose). Também são encontrados açúcares modificados, como o sorbitol e o manitol, que são derivados alcoólicos (Fig. 6.11).

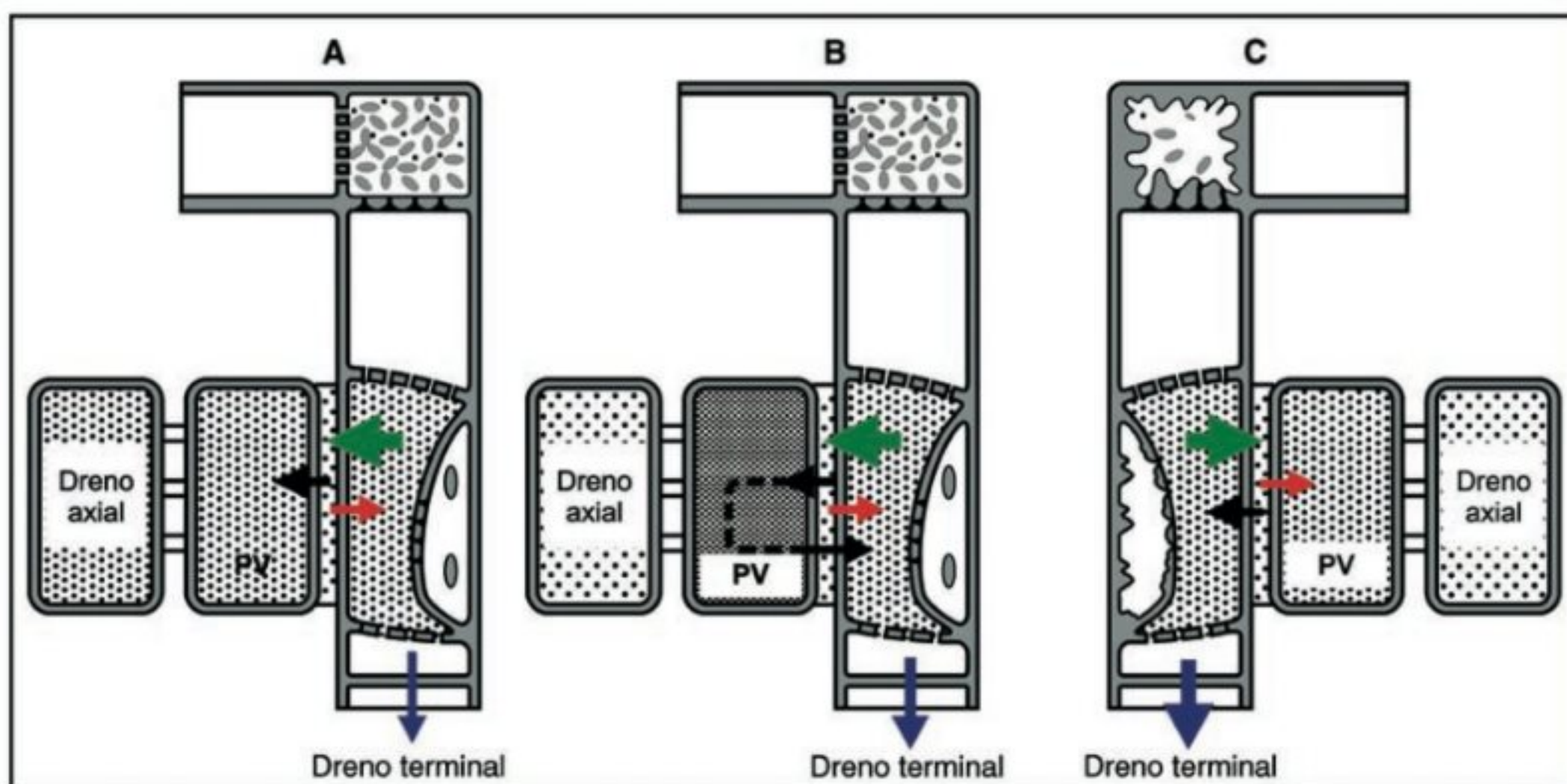
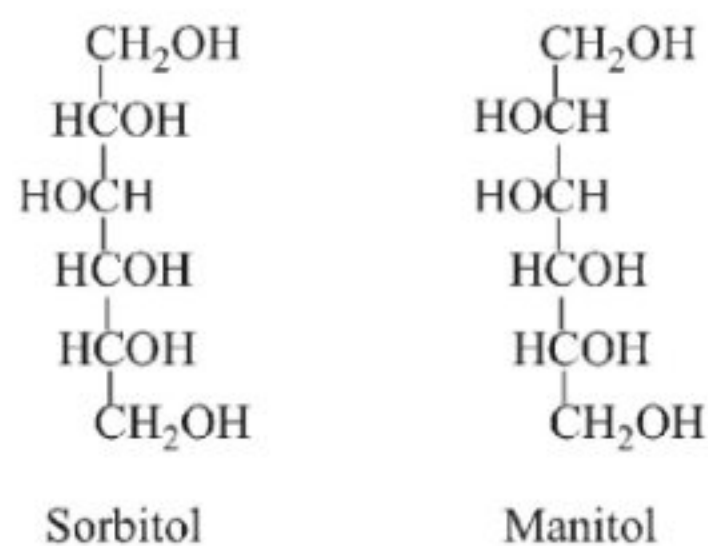


FIGURA 6.10

Modelo hipotético do impacto que a diferença da força próton-motriz ($\Delta C = \Delta \Psi_{EC/CC} - \Delta \Psi_{PV}$) entre as células do complexo EC/CC (elementos crivados/células companheiras) e as células do parênquima vascular (PV) exerce na partição dos fotoassimilados em plantas que fazem o transporte por via simplástica (A e B) ou apoplástica (C). Nas espécies onde as células do complexo EC/CC são carregadas por via apoplástica o deslocamento de fotoassimilados para os drenos terminais é mais eficiente (C), enquanto nas outras espécies onde há o carregamento simplástico do floema ocorrem perdas maiores para os drenos axiais (A e B). (Adaptado de Hafke *et al.*, 2005.)

**FIGURA 6.11**

Açúcares-alcoóis: sorbitol e manitol.

As substâncias transportadas em maior quantidade no floema são os açúcares não-redutores do grupo da rafinose (sacarose, rafinose, estaquiase e verbascose). Desse grupo, a sacarose é o açúcar transportado em maior quantidade, embora outros açúcares também estejam presentes. Rafinose e estaquiase, por exemplo, são comumente transportados no floema. O manitol também é encontrado com frequência no floema.

Os açúcares redutores, como a glicose, a frutose e a manose, quase nunca são encontrados no floema.

A sacarose é o açúcar transportado em maior volume no floema, podendo atingir concentrações que variam de 0,3 a 0,9 M. Em termos gerais, a concentração de sacarose no floema da maioria das plantas fica em torno de 12 e 120 mg de açúcar por ml de volume de floema.

Outros elementos transportados

O nitrogênio (N) é transportado no floema principalmente sob a forma de aminoácidos e amidas. Os aminoácidos usados nesse transporte são principalmente o ácido aspártico, o ácido glutâmico e as suas amidas asparagina e glutamina, respectivamente. É importante observar que o nitrato, que é a forma de N transportada com maior frequência no xilema, não é transportado no floema. Em plantas fixadoras de nitrogênio, em particular nas variedades tropicais, o N pode também ser transportado sob as formas de ácido alantóico ou alantóina.

Entretanto, o potássio, que é transportado no xilema junto com o nitrato (K^+/NO_3^-), pode também ser transportado no floema, geralmente junto com ácidos orgânicos ($\text{R}-\text{COO}^-$), principalmente com o malato. Outros nutrientes, como o cálcio, o enxofre e o ferro, que são transportados para a parte aérea das plantas, via xilema, também não são transportados no floema. O cálcio e o ferro são nutrientes de baixa mobilidade na planta. Isso significa que, uma vez localizados em alguma parte do tecido vegetal, eles não são remobilizados para outras partes ou tecidos. Sintomas de deficiência de ferro, como a *clorose de topo*, ou seja, a clorose que ocorre nas folhas mais jovens ou folhas em desenvolvimento, resultam dessa imobilidade. Como ocorre uma movimentação de nutrientes no sentido fonte-dreno, e como esses elementos ficam retidos nos locais-fonte, a sua deficiência se faz sentir nos locais-

dreno, onde existe uma demanda maior desses nutrientes para o metabolismo dos tecidos jovens.

O nitrogênio e o fósforo, por outro lado, são nutrientes de grande mobilidade na planta. Quando ocorre uma deficiência de P ou N no solo, a planta remobiliza o nitrogênio e o fósforo que estavam nos tecidos-fonte e os desloca, via floema, para os tecidos-dreno. Esses elementos deslocam-se no floema como compostos orgânicos (aminoácidos, por exemplo). É por essa razão que, em caso de deficiência de N, observa-se uma clorose nas folhas mais velhas (folhas-fonte), ao contrário da deficiência de Fe, que provoca uma clorose nas folhas jovens (folhas-dreno).

O transporte de proteínas pode ocorrer também no floema. O movimento das proteínas-P na direção fonte-dreno indica que, ao contrário do que se supunha, elas não ficam imobilizadas na camada parietal das células dos elementos crivados, onde formariam agregados, e existem evidências de que elas podem ser deslocadas para outras partes da planta. Essas proteínas têm peso molecular entre 20 e 60 kDa e são transferidas das CC para os EC via plasmodesmos. A velocidade de deslocamento dessas proteínas nos EC chega a 40 cm h^{-1} .

O transporte de proteínas ocorre também através do plasmodesma. Pelo menos, esse movimento já foi observado nas células próximas do complexo CC/EC. Para que isso ocorra, entretanto, é preciso que haja uma modificação nos plasmodesmos para que seja superado o limite de exclusão desse sistema condutor, que, na maioria das vezes, situa-se em torno de 1 kDa. Experiências feitas com *Curcubita maxima* mostram a existência de transporte nos plasmodesmas de células do mesofilo de proteínas na faixa de 10 a 200 kDa. Estima-se que em torno de 200 proteínas solúveis existam no floema, embora nem todas tenham sido identificadas.

Todo esse material se desloca no floema em solução, o que significa que, embora nos referamos à sacarose como sendo a substância encontrada em maior quantidade no floema, estamos falando de solutos. Em termos absolutos, a substância deslocada em maior volume no floema é realmente a água.

Além dessas substâncias referidas, que são deslocadas no floema em maior volume, também circulam por esses vasos os hormônios vegetais, tais como as auxinas, as giberelinas, a citocinina e o ácido abscísico (ABA).

O RNA também circula via simplástica e entra na corrente de transporte do floema. RNA de vírus circulam desse modo pelas plantas. Já foi observado o transporte de RNA viral patogênico com capacidade de codificar proteínas, e com genoma da ordem de 250 a 350 nucleotídeos.

SAÍDA DE SACAROSE

O escoamento da sacarose das células do mesofilo para o espaço livre foi estimado em 120 pmol de sacarose por $\text{cm}^2 \text{ min}^{-1}$. Esse valor é muito maior que o esperado num sistema de escoamento passivo. A conclusão é de que deve haver a intermediação de um sistema de transporte por difusão facilitada. A saída de açúcares para o espaço livre é aumentada pela presença de K^+ . Isso pode indicar um mecanismo de co-transporte $\text{K}^+/\text{açúcares}$.

O descarregamento do floema é extremamente importante para a agricultura. Patrick (1997) o considera um dos elementos-chave na determinação da produtividade.

Fotoassimilados chegam às regiões subapicais das extremidades das raízes, via descarregamento, através do protofloema. Isso significa que também na região meristemática do ápice radicular existem conexões através de plasmodesmos que ligam as células dessa região às células do sistema crivado.

Nas sementes, a conexão entre os tecidos mais velhos e os mais novos pode ser interrompida. Nesses sistemas, é necessário que ocorra um descarregamento de solutos no apoplasma para posterior recarregamento nas células mais jovens.

Embora o sistema de descarregamento do floema e deslocamento de solutos para os drenos ainda não esteja completamente esclarecido, algumas regras gerais já podem ser estabelecidas. Em primeiro lugar, o descarregamento de solutos no floema para o apoplasma é quase sempre uma etapa necessária. Isso é devido, principalmente, aos elevados gradientes de concentração que se desenvolvem através da plasmalema entre o sistema crivado e o apoplasma.

TRANSPORTE FONTE–DRENO

Os experimentos clássicos sobre o transporte de açúcares começaram a ser feitos ainda no século XVII, por Malpighi, utilizando o descascamento do caule em forma de anel (anelamento). Quando um anel é feito em um galho de árvore, os nutrientes acumulam-se na parte superior ao anelamento, enquanto, na parte inferior, ocorre uma depleção de açúcares e outros nutrientes. Esses experimentos foram complementados mais recentemente com o uso de radioisótopos. Quando se aplica às plantas CO_2 marcado (com um isótopo radioativo de carbono; ^{14}C ou ^{11}C), estas fixam o CO_2 na fotossíntese e formam vários compostos, principalmente açúcares fosfatados (P-açúcares), mas também sacarose. Esses elementos incorporam o C-marcado em sua estrutura e permitem, por auto-radiografia, que se determinem quais compostos estão acumulando na parte superior ao anelamento. Trabalhos como estes mostraram, inequivocamente, que o anelamento resulta em acúmulo, na parte superior do anel, de elementos que são normalmente transportados no floema (açúcares redutores, açúcares não-redutores, aminoácidos e amidas).

O deslocamento de substâncias no floema segue a direção fonte–dreno (Fig. 6.12). A localização das fontes pode mudar ao longo da ontogênese. Assim, folhas mais novas que são fontes, à medida que as plantas se desenvolvem, podem passar a drenos. A fotossíntese concentra-se nas folhas mais novas, e as antigas folhas-fonte, agora em posição inferior ao longo do eixo longitudinal da planta, necessitam dos fotoassimilados produzidos nas folhas mais jovens para suprir o seu metabolismo de esqueletos de carbono. Por outro lado, em plantas perenes, ou mesmo em plantas bianuais, caules e raízes que numa estação eram simplesmente drenos, na estação seguinte podem agir como fonte, liberando compostos de carbono que serão usados como suprimento de energia e material de síntese em outros órgãos em crescimento. O deslocamento dessa relação fonte–dreno ocorre naturalmente ao longo do ciclo da planta.

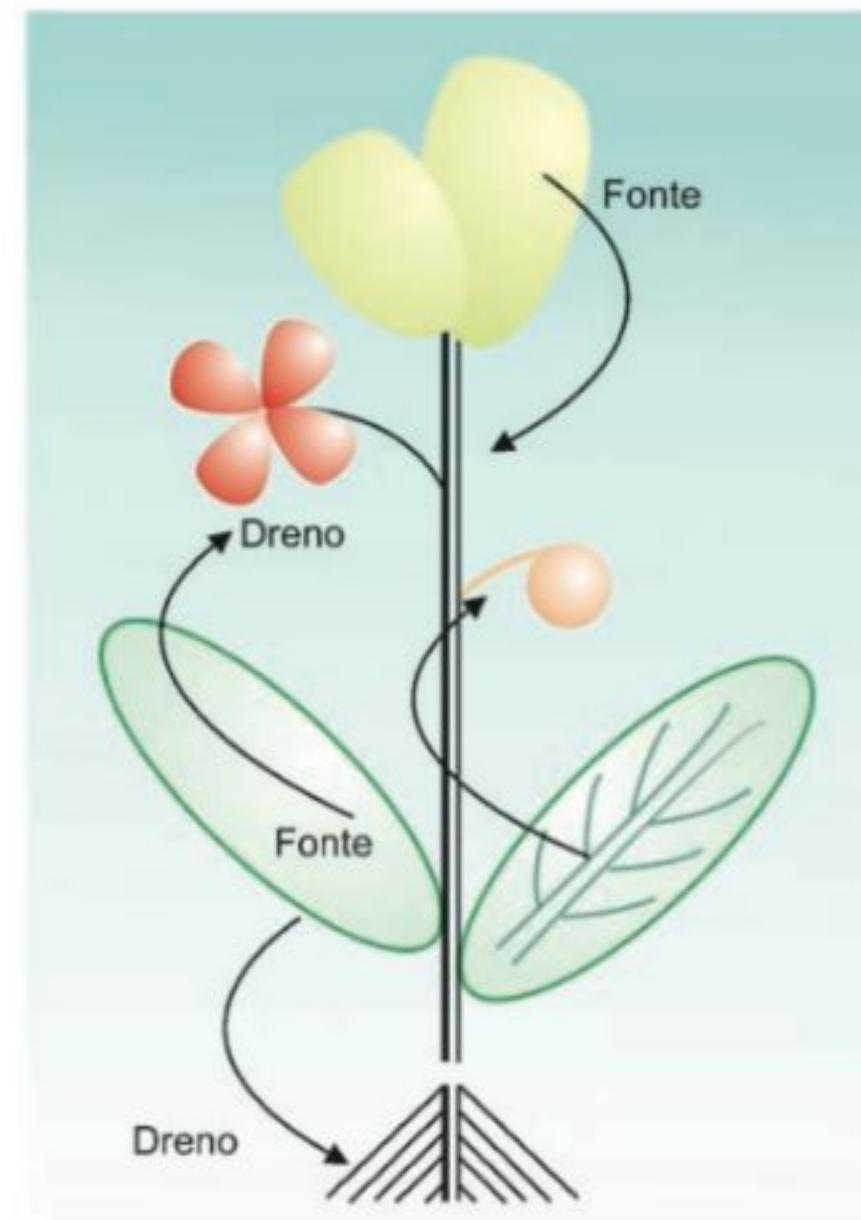


FIGURA 6.12

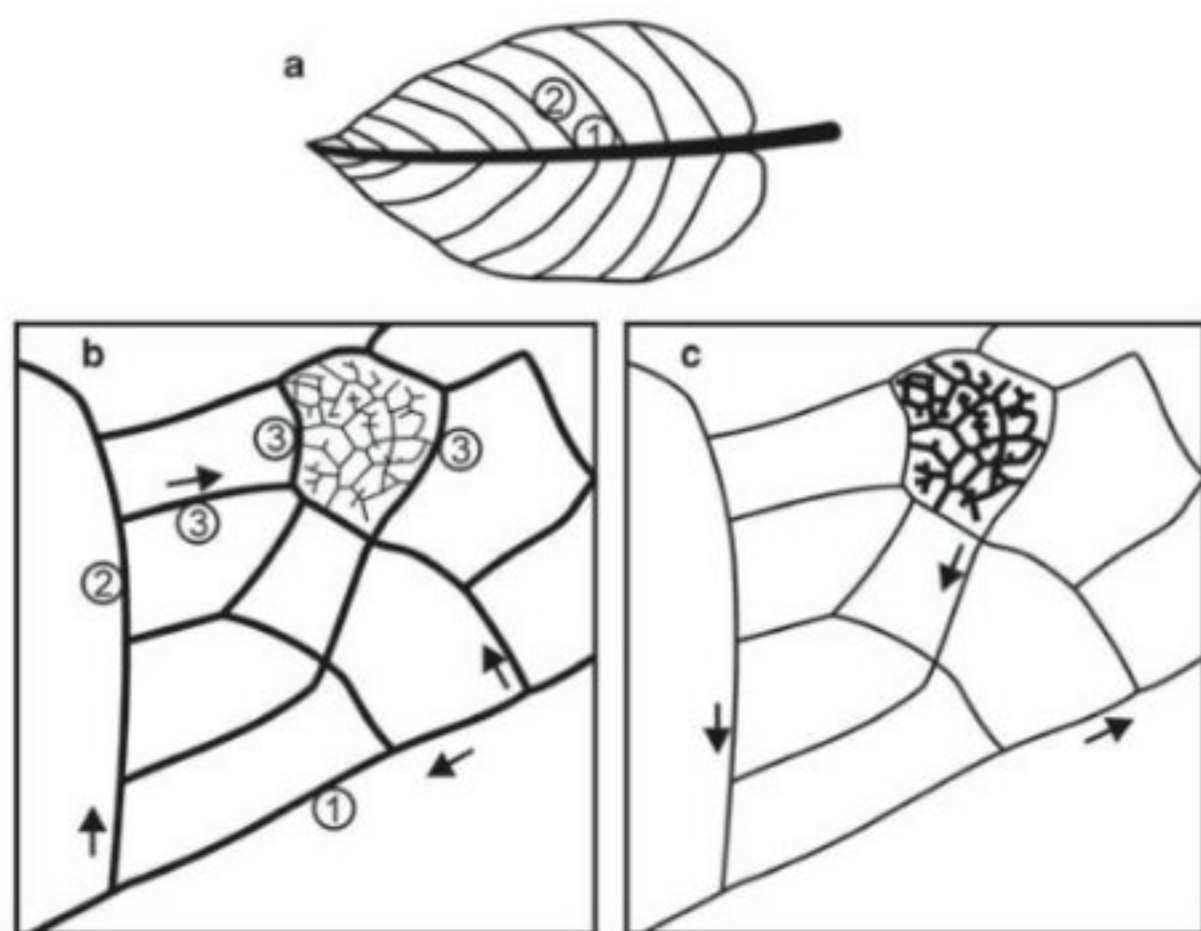
Modelo esquemático fonte–dreno: folhas mais velhas e outras folhas são fontes para o desenvolvimento de flores e frutos (drenos).

Normalmente, as folhas adultas na parte superior das plantas atuam como *fonte* para as folhas mais novas, folhas em desenvolvimento e brotos. As folhas adultas localizadas na parte inferior da planta funcionam como *fonte* para as raízes (Fig. 6.12).

A atividade das folhas como fonte para a parte inferior (raízes) e para a parte superior da planta (brotos) não é fixa. Folhas que, em determinado estágio de desenvolvimento, atuam como fonte para as folhas mais jovens podem, na etapa seguinte de desenvolvimento da planta, atuar como *fonte* para as raízes.

Por outro lado, os *drenos* podem mudar. Tecidos ou órgãos (folhas) que inicialmente funcionavam como *drenos* podem, ao longo do desenvolvimento da planta, passar a funcionar como fonte. Estima-se que a passagem de dreno para fonte ocorre quando o órgão-fonte atinge 30 a 50% do seu desenvolvimento total. Em determinada fase de seu crescimento vegetativo, as folhas em desenvolvimento na parte superior do caule podem ser o dreno preferencial para um grupo de folhas adultas. Numa outra fase de crescimento, o dreno preferencial na parte aérea pode ser formado de flores e/ou frutos em desenvolvimento (Fig. 6.11). A lógica do processo é o deslocamento de produtos da fotossíntese do lugar onde estão sendo elaborados (células do mesófilo), para os locais onde exista a maior demanda metabólica. A maior demanda metabólica ocorre principalmente em órgão e tecidos em fase de expansão. É por essa razão que os drenos mudam durante a ontogenia da planta. Primeiro os drenos são as folhas em desenvolvimento (folhas jovens), depois flores e, finalmente, frutos.

Como observado por Turgeon (2006) as folhas ganham “independência” quando deixam de receber fotoassimilados de áreas

**FIGURA 6.13**

(a) Divisão de trabalho nas nervuras de uma folha de tabaco (nervuras 1, 2 e 3); (b) Quando a folha é imatura e ainda está na fase de dreno os fotoassimilados são importados das folhas maduras e distribuídos (setas) através das nervuras principais (nervura de primeira ordem: 1); (c) Nas folhas maduras não ocorre mais o influxo de fotoassimilados, ao contrário, as folhas começam a exportar; as nervuras principais não conseguem mais descarregar fotoassimilados nessa parte do vegetal. (Adaptada de Turgeon, 2006.)

fontes, passando a serem elas próprias fontes. Quando isso acontece há um bloqueio definitivo para a entrada de fotoassimilados na folha que se torna fonte e novas comunicações são abertas para que os fotoassimilados sejam exportados para outras regiões. Na Fig. 6.13, adaptada de Turgeon (2006), é mostrada como ocorre a mudança de fluxo dreno-fonte com o amadurecimento em uma determinada região da folha.

Nas folhas das dicotiledôneas, observou-se que esse processo começa pelo ápice foliar e vai se desenvolvendo progressivamente em direção à base. Em beterraba açucareira, o processo de exportação de fotoassimilados tem início quando as nervuras mais finas acumulam açúcares acima de um nível mínimo, a partir do qual a folha se torna uma fonte exportadora de açúcares. Ao mesmo tempo em que esse patamar é alcançado em relação ao acúmulo de açúcares, nas membranas das células do floema as ATPases começam a se desenvolver e a iniciar sua atividade (ver Cap. 21, Tuberização).

Nas plantas anuais, como arroz, trigo ou feijão, essa mudança na relação fonte-dreno ocorre naturalmente. Folhas inferiores, que funcionaram por algum tempo como drenos, passam a funcionar como fontes, quando ocorrem mudanças drásticas no metabolismo da planta como um todo. Esse é o caso, por exemplo, durante a fase reprodutiva na maioria das plantas anuais. Ao se iniciar o ciclo reprodutivo, ocorre uma grande remobilização de nutrientes na direção de flores e frutos. Nesse momento, a atividade fotossintética pode ser completa ou parcialmente interrompida nas folhas ativas, e as próprias enzimas de assimilação, fundamentalmente a RUBISCO (ver Cap. 5, Fotossíntese), são

hidrolisadas, e o nitrogênio das suas proteínas reutilizado para a biossíntese de proteínas de reserva.

Nesse caso, as folhas mais velhas — e, em algumas espécies, os caules e raízes — são utilizadas como fontes, fornecendo açúcares, aminoácidos e minerais para a biossíntese de compostos de reserva nas sementes. Nas plantas perenes e, particularmente, em espécies decíduas, os caules funcionam como órgãos de reserva quando da queda das folhas. No início do rebrotamento, quando das estações favoráveis ao crescimento, esse material de reserva é retranslocado para os locais de intensa atividade metabólica, que, nesse caso, são os brotos que darão origem a novos ramos e folhas. A direção fonte-dreno pode ser modificada artificialmente pela aplicação de reguladores de crescimento ou suprimento de nutrientes às plantas.

Em trabalhos com arroz, por exemplo, observou-se que, com aplicação suplementar de nitrogênio durante o período reprodutivo, ou seja, quando era ministrada uma fonte externa de nitrogênio às plantas, a remobilização desse nutriente, desde suas partes vegetativas (fonte) para os grãos em desenvolvimento (dreno), sofria grande redução (Souza *et al.*, 1998; 1999). Deve ser levado em conta que, no período reprodutivo, a manutenção de uma fonte adequada de N para o desenvolvimento dos grãos e estruturas de reprodução é crítica. Em culturas de cereais, é comum o N do solo estar em baixa concentração após o florescimento (antese), sendo o N do grão proveniente da remobilização de N de outros tecidos. Os grãos requerem grande quantidade de N para atender à demanda decorrente da elevada síntese de proteína que ocorre durante o seu desenvolvimento.

No processo de remobilização de N, proteínas são hidrolisadas e os aminoácidos são convertidos em formas que podem ser translocadas para os órgãos em desenvolvimento. A glutamina é o principal aminoácido de transporte durante o desenvolvimento dos grãos de arroz, enquanto o glutamato é o aminoácido presente em maior proporção nas folhas de arroz durante o período vegetativo. Entretanto, durante a senescência, o teor de glutamato diminui e aumentam os níveis de sua amida, a glutamina, que apresenta menor relação C:N e, portanto, acumula mais N do que o glutamato com o mesmo número de carbonos.

Durante o período de enchimento dos grãos, o nitrogênio é translocado gradualmente dos órgãos vegetativos para as panículas de arroz em desenvolvimento. Entre os vários tecidos vegetativos, as lâminas foliares contribuem com a maior parte do N fornecido à panícula, podendo chegar a cerca de 60% do total (Mae e Ohira, 1984). Uma estreita relação entre nitrogênio exportado das folhas senescentes e enchimento dos grãos é observada em arroz.

Quando se estudou a redistribuição de nitrogênio em duas variedades de arroz, uma de cultivo tradicional, a Piauí, e outra melhorada, a IAC-47, com adubação nitrogenada no plantio e suplementação, via foliar, no 10^o e 20^o dias após a antese, observou-se que a taxa diária de perda de nitrogênio da parte aérea nos tratamentos era menor do que nas plantas-controles (que não receberam N suplementar), indicando que, quando há uma fonte externa de N, a planta utiliza menos de suas reservas vegetativas para o enchimento dos grãos. Portanto, quando a

planta recebe adubação nitrogenada suplementar, a contribuição do N da parte aérea para o enchimento dos grãos é menor, e quando não recebe N-suplementar, a planta desloca mais N de sua parte vegetativa para o enchimento dos grãos. No primeiro caso, a fonte de N (parte aérea) contribui menos para o enchimento dos grãos, porque existe uma fonte alternativa de N, fornecida através da adubação com N-foliar, o que não acontece com as testemunhas (Souza *et al.*, 1998). A experiência descrita mostra, claramente, que, além das modificações que ocorrem naturalmente nas relações fonte–dreno, é possível modificar artificialmente esse processo através de práticas agrícolas.

REFERÊNCIAS

- Ayre BG, Keller F, Turgeon R. Symplastic continuity between companion cells and the translocation stream: long-distance transport is controlled by retention and retrieval mechanisms in the phloem. *Plant Physiology*, 2003; 131:1518-1528.
- Bellow FE, Christensen LE, Reed AJ, Hageman RH. Availability of reduced N and carbohydrates for ear development of maize. *Plant Physiology*, 1981; 68:1186-1190.
- Fernandes, MS, Souza, SR. Absorção de nutrientes. p. 115-152. In: *Nutrição Mineral de Plantas*, Fernandes, MS (ed). SBCS. 2006, 432 p.
- Gamalei YV. Phloem loading and its development related to plant evolution from trees to herbs. *Trees*, 1991; 5:50-64.
- Geiger DR, Fondy BR. Phloem loading and unloading: pathways and mechanisms. *What's New in Plant Physiology*, 1980; 11:25-28.
- Giaquinta RT. Phloem loading of sucrose. *Ann Rev Plant Physiol*, 1983; 34:347-387.
- Gunning BES, Robards AW (eds). *Intercellular Communication in Plants: studies on plasmodesmata*. Springer Berlin Deildelberg, 1976.
- Hayashi H, Chino M. Chemical composition of phloem sap from the uppermost internode of the rice plant. *Plant Cell Physiology*, 1990; 31:247-251.
- Kamachi K, Yamaya T, Mae T, Ojima K. A role for glutamine synthetase in the remobilization of leaf nitrogen during natural senescence in rice leaves. *Plant Physiology*, 1991; 96:411-417.
- Mae T, Ohira K. The remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol*, 1981; 22:1067-1074.
- Mae T, Ohira K. The relationship between proteolytic activity and loss of soluble protein in rice leaves from anthesis through senescence. *Soil Sci Plant Nutr*, 1984; 30(3):427-434.
- Millard P. The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. *Plant Cell*, 1988; 11:1-8.
- Munch E. *Die Stoffbewegungen in der Pflanze*. Gustav Fischer, Jena, 1930.
- Pate JS. Transport and partitioning of nitrogen solutes. *Annual Review of Plant Physiology*, 1980; 31:313-340.
- Patrick JW. Phloem unloading: sieve element unloading and post-sieve element transport. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1997; 48:191-222.
- Pimentel C. *Metabolismo de Carbono na Agricultura Tropical*, Carlos Pimentel — Seropédica, EDUR 1998, 159p, ISBN 85-85720-16-6.
- Simpson RJ, Dalling MJ. Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum*). *Planta*, 1981; 151:447-456.
- Souza SR, Stark EMLM, Fernandes MS. Nitrogen remobilization during the reproductive period in two Brazilian rice varieties. *Journal of Plant Nutrition*, 1998; 21(10):2049-2063.
- Souza SR, Stark EMLM, Fernandes MS. Foliar spraying of rice with nitrogen: Effect on protein levels, protein fractions, and grain weight. *Journal of Plant Nutrition*, 1999; 22(3):579-588.
- Staswick PE. Preferential loss of an abundant storage protein from Soybean pods during seed development. *Plant Physiology*, 1989; 90:1252-1255.
- Taiz L, Zeiger E. Phloem Translocation. In: *Plant Physiology*. The Benjamin/Cumming Publishing Company-California. 2003, pp 145-175.
- Thompson MV. Phloem: the long and the short of it. *Trends in Plants Science*, 2006; 11(1):26-31.
- Thompson MV, Schulz A. Macromolecular trafficking in phloem. *Trends in Plants Science*, 1999; 4(9):354-360.
- Turgeon R. Symplastic phloem loading and the sink-source transition in leaves: a model. *Plant Physiology*, 1991; 96:18-22.
- Turgeon R. Phloem loading: how leaves gain their independence. *Bioscience*, 2006; 56(1):15-24.
- van Bel AJE, Ehlers K, Knoblauch M. Sieve elements caught in the act. *Trends in Plant Science*, 2002; 7(3):126-132.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Fisher DB, Cash-Clark CE. Sieve tube unloading and post-phloem transport of fluorescent tracers and proteins injected into sieve tubes via severed aphid stylets. *Plant Physiology*, 2000; 123:125-138.
- Hafke JB, van Amerongen JK, Kelling F, Furch ACU, Gaupels F, van Bel AJE. Thermodynamic battle for photosynthate acquisition between sieve tubes and adjoining parenchyma in transport phloem. *Plant Physiology*, 2005; 138:1527-1537.
- Lalonde S, Boles E, Helimann H, Barker L, Patrick JW, Frommer WB, Ward JM. The dual function of sugar carriers: transport and sensing. *The Plant Cell*, 1999; 11:707-726.
- Oparka KJ, Santa Cruz S. The great escape: phloem transport and unloading of macromolecules. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2000, 51:323-347.
- Patrick JW. Phloem unloading: sieve element unloading and post-sieve element transport. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1997; 48:191-222.
- Sjolund RD. The phloem sieve element: a river runs through it. *Plant Cell*, 1997; 9:1137-1146.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cumming Publishing Company-California, 2003.
- Weise A, Barker L, Kuhn C, Lalonde S, Buschman H, Frommer WB, Ward JM. A new subfamily of sucrose transporter, SUT, with low affinity/high capacity localized in enucleate sieve elements of plants. *Plant Cell*, 2000; 12:1345-1356.

CAPÍTULO 7

Respiração

Marcos S. Buckeridge, Marco Aurélio S. Tiné, Miguel José Minhoto e Denis Ubada de Lima

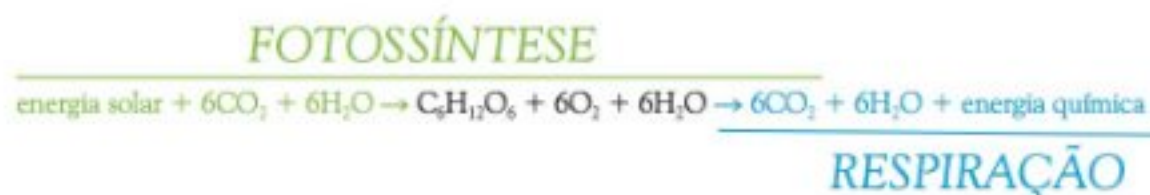
INTRODUÇÃO

A respiração e a fotossíntese são dois processos fundamentais para a vida em nosso planeta. A maioria dos organismos vivos tem que absorver oxigênio molecular (O_2) e ser capaz, de alguma forma, de fragmentar compostos de carbono (carboidratos, lipídios e proteínas, por exemplo) e utilizar a energia contida nesses compostos para o desenvolvimento e a manutenção de seus corpos. Via de regra, os carboidratos são os compostos nos quais a energia é armazenada, e, de forma simples, o processo respiratório pode ser descrito da seguinte forma:



Basicamente, a fotossíntese consiste em captar CO_2 e luz solar e sintetizar os açúcares, sendo às vezes definida como o inverso da respiração (ver Cap. 5, Fotossíntese).

O processo como um todo pode ser visto da seguinte forma:



Pode-se ver pelo esquema acima que os dois processos, fotossíntese e respiração, são complementares. O metabolismo das plantas requer os dois processos: para fazer fotossíntese, as plantas precisam respirar, pois necessitam de energia, e para respirar precisam de açúcares, que contêm a energia armazenada pela fotossíntese.

Um dos principais problemas a serem resolvidos pelas plantas é que nem todas as partes vivas da planta são capazes de fazer fotossíntese (raízes, por exemplo), enquanto todas as partes vivas respiram. Com isso, os açúcares têm que ser transportados de seus pontos principais de produção (as folhas) para toda a planta, onde há células vivas, para que estas sejam capazes de se desenvolver e efetuar sua própria manutenção.

Há ainda um outro complicador: a fotossíntese depende da luz e o período de luz é limitado ao dia, enquanto todas as células vivas de um vegetal têm que respirar o tempo todo, inclusive à noite, ainda que com variações de intensidade. Desse modo, os produtos da fotossíntese têm que ser armazenados por um tempo e distribuídos de forma eficiente para todas as demais células vivas o tempo todo e na medida certa (ver Cap. 6, Transporte no floema).

O processo respiratório ocorre em todas as células vivas dos vegetais, as quais possuem organelas especiais, as mitocôndrias, que funcionam como usinas de processamento e produção de compostos energéticos (Fig. 7.1). Além de ser uma importante

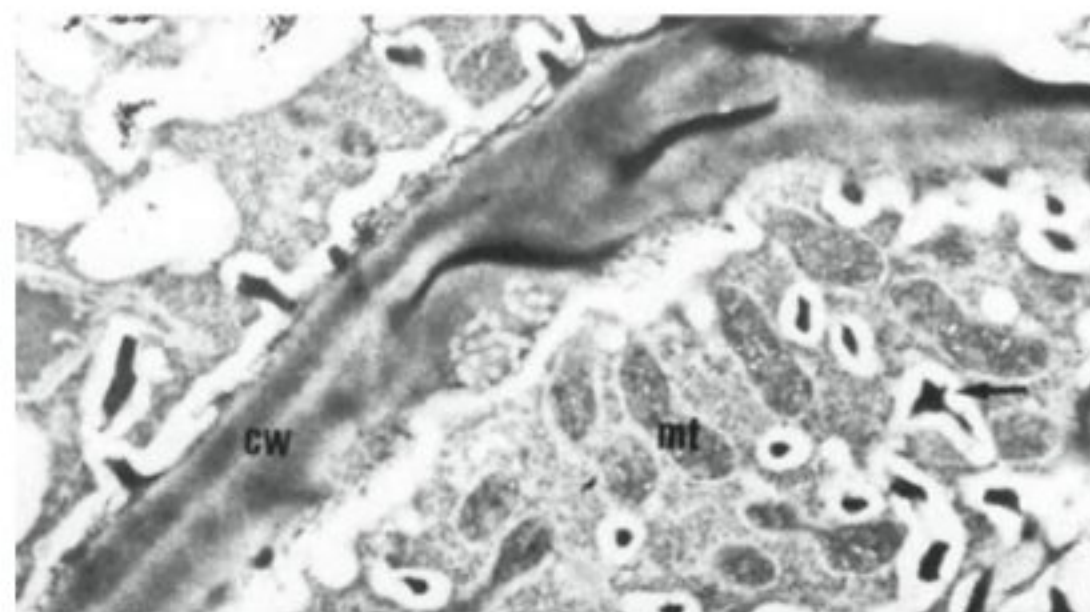


FIGURA 7.1

Fotomicrografia mostrando células de transferência em cotilédones de *Lupinus angustifolius*. Nesse momento, os cotilédones estão mobilizando reservas e há grande produção de sacarose e aminoácidos. Esses compostos têm que ser transportados para a plântula em crescimento, pois o cotilédone irá cair após a mobilização de toda a reserva. As células de transferência apresentam atividade metabólica extremamente alta e um grande número de mitocôndrias. cw — parede celular; mt — mitocôndria. A seta indica material de transferência. Foto: Marcos S. Buckeridge & John S. Grant Reid.

etapa na geração de energia, vários compostos intermediários da respiração podem ser desviados para vias de biossíntese, servindo de esqueletos carbônicos para polissacarídeos, ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas e compostos do metabolismo secundário (Fig. 7.6).

Basicamente, um composto de carbono é inicialmente “desmontado” no citoplasma celular e seus produtos de degradação penetram nas mitocôndrias que, através de transformações desses fragmentos, irão produzir um único tipo de composto energético, o ATP (adenosina trifosfato). Este composto é utilizado pelas células em todos os processos de construção de moléculas, desde compostos fenólicos até as proteínas e DNA. Porém, para o desenvolvimento de um organismo vivo, não basta somente construir moléculas. Elas têm que ser utilizadas para construir estruturas mais complexas, como, por exemplo, as próprias mitocôndrias, e para isso as células também têm que gastar energia, ou seja, consumir ATP. Como sabemos, o processo não pára aí, pois as organelas têm que estar organizadas dentro das células e estas por sua vez têm que se comunicar de forma a produzir tecidos e órgãos, e estes últimos são ainda organizados de forma a produzir o organismo inteiro.

Todos os níveis mencionados acima fazem parte de um processo extremamente complexo de desenvolvimento que resulta em um organismo que ainda tem que estar apto a responder adequadamente ao ambiente, que não é só o físico, mas também o biótico. É essencial, portanto, que todos esses níveis se mantenham em constante “comunicação” e isso tudo exige gasto constante de energia por todas as células de todos os tecidos de todos os organismos vegetais vivos na biosfera.

Este capítulo trata do processo de respiração, e a abordagem será a de mostrar os eventos mais relevantes relacionados a esse processo nos diferentes níveis de organização, começando no nível celular e terminando na relação das plantas com o ambiente biótico e abiótico. Aspectos bioquímicos das diversas partes do processo respiratório podem ser obtidos de livros-textos de bioquímica. Assim, neste capítulo, os aspectos bioquímicos e celulares foram expostos em equilíbrio com os aspectos fisiológicos, de forma a permitir o uso das informações bioquímicas e celulares na apreciação da respiração junto aos órgãos, planta inteira e em nível de ecossistema.

O FLUXO DE CARBONO NA CÉLULA

A usina processadora de açúcares nas células vegetais é a mitocôndria, que ocorre em diferentes quantidades dependendo da taxa respiratória do tecido (Fig. 7.1). O processo respiratório completo é normalmente dividido com base na localização intracelular. A primeira etapa é a *glicólise*, que ocorre no citossol; a segunda é o *ciclo dos ácidos tricarbóxicos* (ou *ciclo de Krebs*), que ocorre na matriz mitocondrial, e a terceira e última etapa, a *cadeia de transporte de elétrons* ou *cadeia respiratória*, ocorre nas cristas mitocondriais (Fig. 7.2).

Além da função básica de geração de energia, a respiração gera esqueletos carbônicos para diversos outros processos bioquímicos (Figs. 7.6 e 7.7). Essa considerável interação com outros

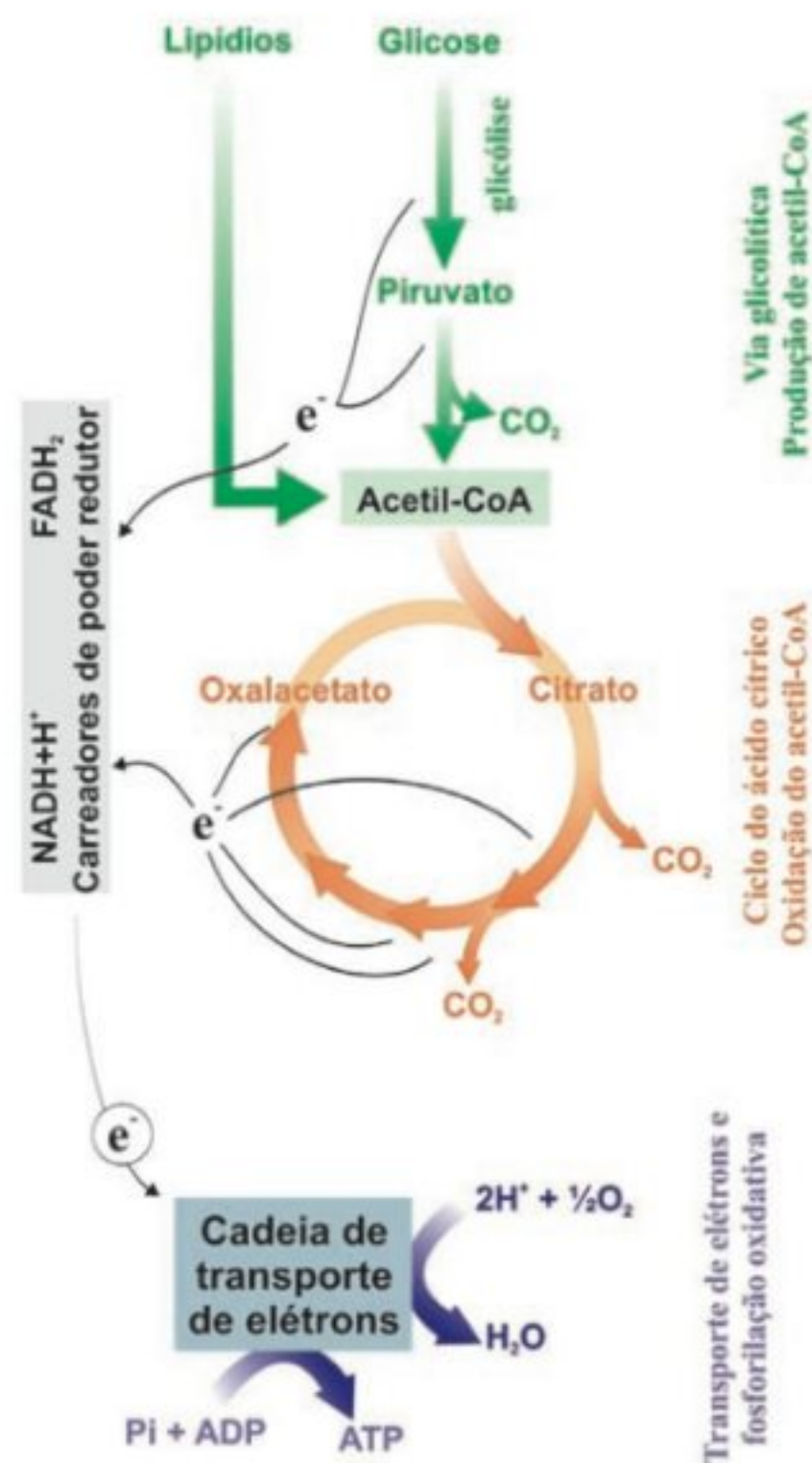


FIGURA 7.2

Visão bioquímica geral do processo respiratório. A respiração é dividida em três fases: via glicolítica, ciclo do ácido cítrico (ou ciclo de Krebs) e a cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa. O esquema salienta o fato de que os carreadores de elétrons são produzidos nas duas primeiras fases e utilizados na cadeia de transporte de elétrons onde ocorre a maior produção de ATP e a redução do oxigênio.

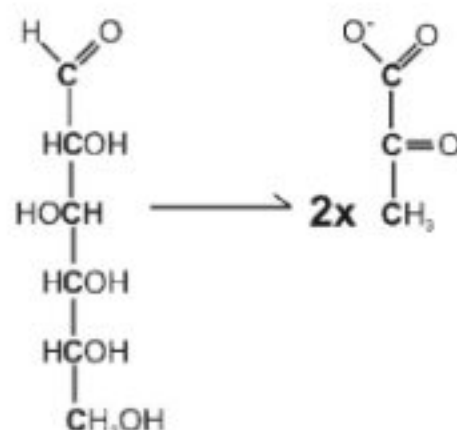
processos metabólicos faz com que a respiração seja considerada como um dos processos centrais do metabolismo.

Glicólise

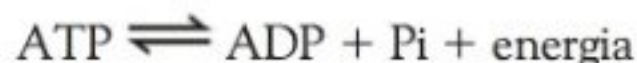
Geralmente toma-se como início do processo respiratório a fosforilação da hexose (geralmente glicose) no citossol. A origem desta hexose pode variar de tecido para tecido, mas isso está diretamente relacionado com a alocação de recursos e balanço de carbono e será abordado adiante. Na fase citossólica da respiração, denominada glicólise, a glicose é parcialmente degradada a piruvato (Quadro 7.1). Esta degradação parcial pode ocorrer tanto pela via glicolítica quanto pela via das pentoses (Fig. 7.6), sendo que em ambos os casos o balanço final é de duas moléculas de piruvato para cada glicose. Embora os dois processos possam ocorrer em paralelo, a via glicolítica está diretamente ligada à produção de energia, sendo que os seus pontos de controle são altamente regulados por indicadores do estado energético da célula, como por exemplo a razão ADP/ATP (Quadro 7.1). A

QUADRO 7.1**Informações importantes para compreender a bioquímica da respiração**

1) Uma hexose contém 6 carbonos e portanto sua degradação, na glicólise, gera dois compostos de 3 carbonos (piruvato):



2) O ATP (adenosina trifosfato), quando utilizado como fonte de energia, gera ADP (adenosina difosfato) e fosfato inorgânico (Pi). Por outro lado, a produção de ATP pode ser feita pela reação inversa, através da fosforilação do ADP, desde que haja uma fonte de energia:



3) A razão ADP/ATP é importante porque funciona com um índice de disponibilidade de energia na célula. Caso haja uma grande disponibilidade de ATP na célula, a taxa respiratória diminui e os intermediários da via glicolítica são desviados para vias de armazenamento, como a síntese de amido ou de lipídios (desenho das balanças).

via das pentoses (ver Fig. 7.6), por outro lado, está mais associada à produção de compostos intermediários como a ribose para os nucleotídeos e redução de NADP, que será utilizado em processos de biossíntese, ao contrário do NAD reduzido nas demais etapas da respiração, cuja finalidade é essencialmente produção de energia.

Na Fig. 7.3, é mostrada a seqüência de reações da glicólise com as respectivas estruturas químicas dos compostos participantes. Veja que a glicólise (*glico*, açúcar; *lise*, quebra) é, essencialmente, um processo gradativo de degradação da glicose. O processo tem início com uma molécula de seis carbonos e atinge um estágio intermediário em que são formadas duas moléculas de três carbonos (o gliceraldeído-3-fosfato). Nesta fase, são gastas duas moléculas de ATP que têm a função de fornecer os fosfatos, os quais, no fim do processo, acabam sendo distribuídos simetricamente na molécula de frutose 1,6-bisfosfato. Esta molécula simétrica, ao ser fragmentada, produz duas moléculas iguais de gliceraldeído 3-fosfato.

A partir desse ponto, o processo consiste em transferir os fosfatos de volta para o ADP, formando novamente ATP. Mas o processo dá lucro, pois além dos 2 ATPs produzidos, a primeira reação (formação do 1,3-bisfosfoglicerato) permite a incorporação de mais um fosfato e a redução de um NAD (formação de NADH+H⁺).

Qualquer que seja o caminho percorrido pela hexose, duas moléculas de ATP são consumidas e quatro são produzidas, de modo que, apesar de apresentar um baixo rendimento energético (um saldo líquido de apenas 2 ATPs), a glicólise (etapa citosólica) pode representar uma importante fonte de energia em algumas situações.

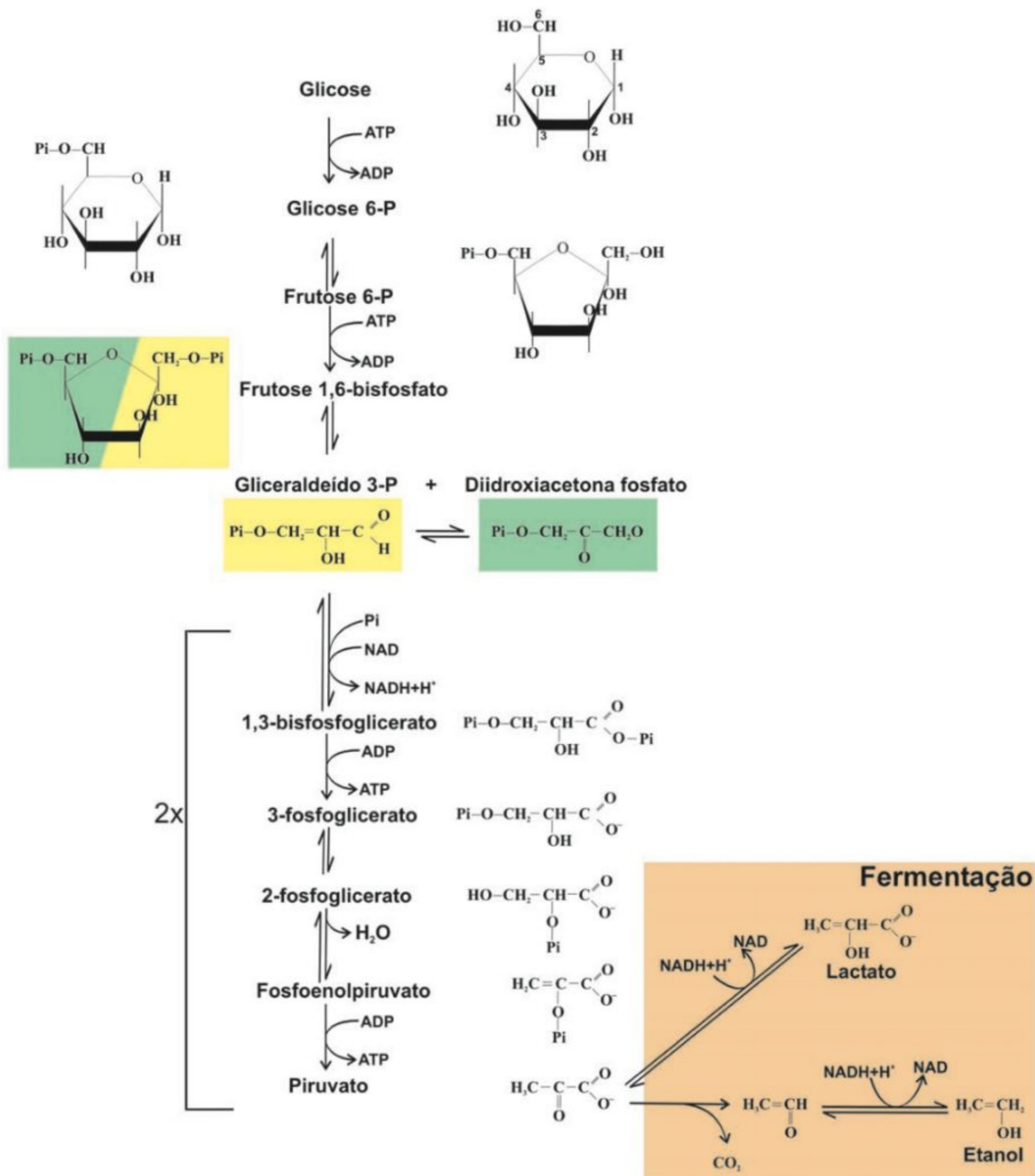
Ciclo dos ácidos tricarboxílicos (CAT) ou ciclo de Krebs

Note que na divisão artificial do processo respiratório coloca-se o piruvato como o composto final da glicólise. Isto porque este é o último composto formado no citoplasma e que será exportado para a mitocôndria.

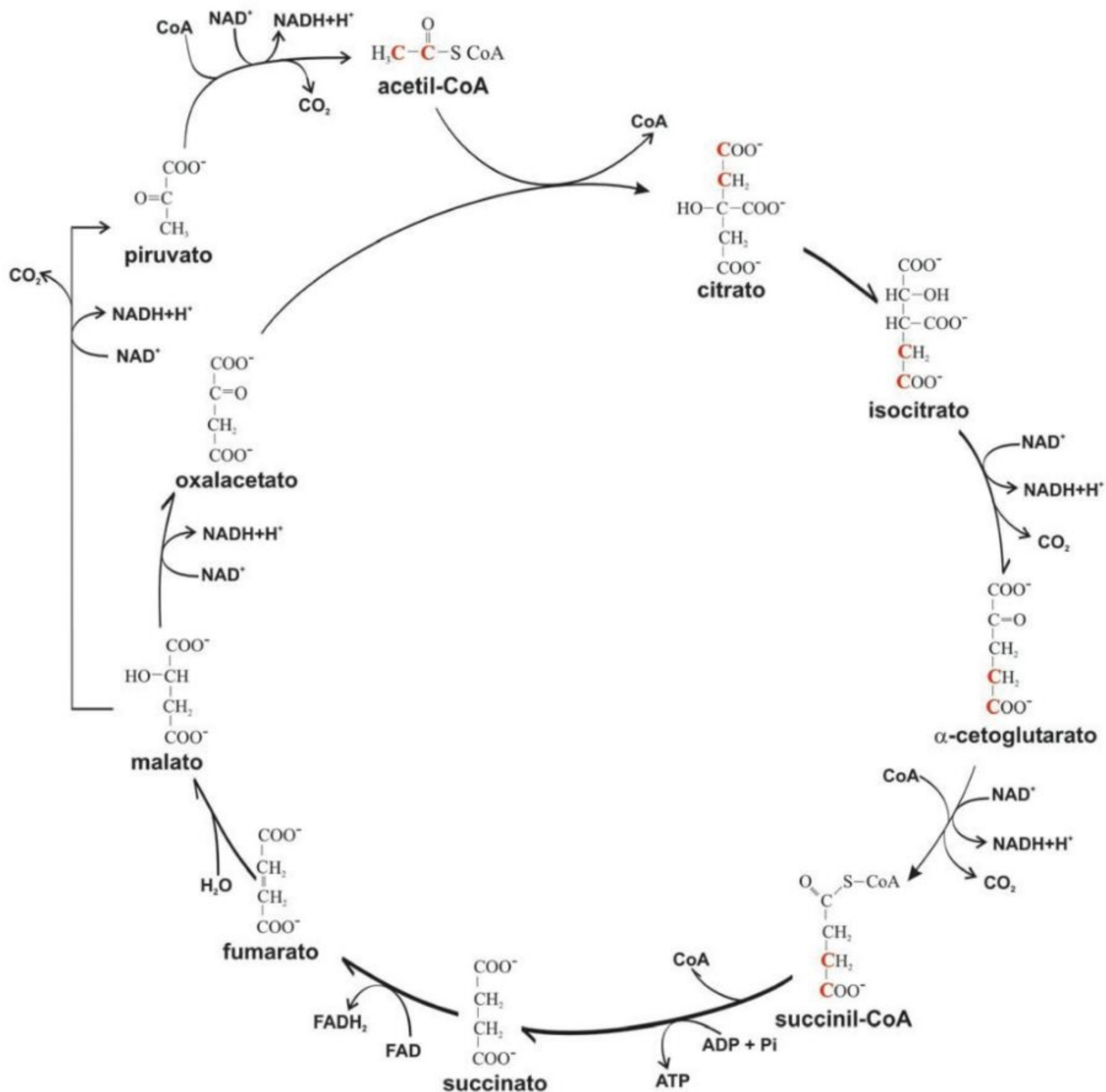
No ciclo dos ácidos tricarboxílicos (CAT), o piruvato é importado pela mitocôndria, onde é metabolizado. O CAT ocorre na matriz mitocondrial e nele o ácido orgânico é oxidado completamente a CO₂ (Fig. 7.4). Após sua importação, o piruvato sofre descarboxilação (perda de CO₂), gerando um radical acetil ligado à coenzima A (acetil-CoA). Este composto, que possui dois carbonos, une-se a uma molécula de oxaloacetato (de quatro carbonos), formando citrato (seis carbonos). Ao passar pelo CAT, dois carbonos são perdidos na forma de CO₂, regenerando novamente o oxaloacetato e assim fechando o CAT. Dessa forma, grande parte da energia química que estava armazenada no carboidrato é transferida para moléculas de ATP, NAD e de FAD, sendo as duas últimas reduzidas no processo a NADH+H⁺ e FADH₂, respectivamente (Fig. 7.3).

O CAT tem pelo menos duas funções importantes na célula. A primeira é produzir energia e/ou compostos redutores para a cadeia de transporte de elétrons e a segunda, igualmente importante, é produzir esqueletos de carbono para o metabolismo celular em geral.

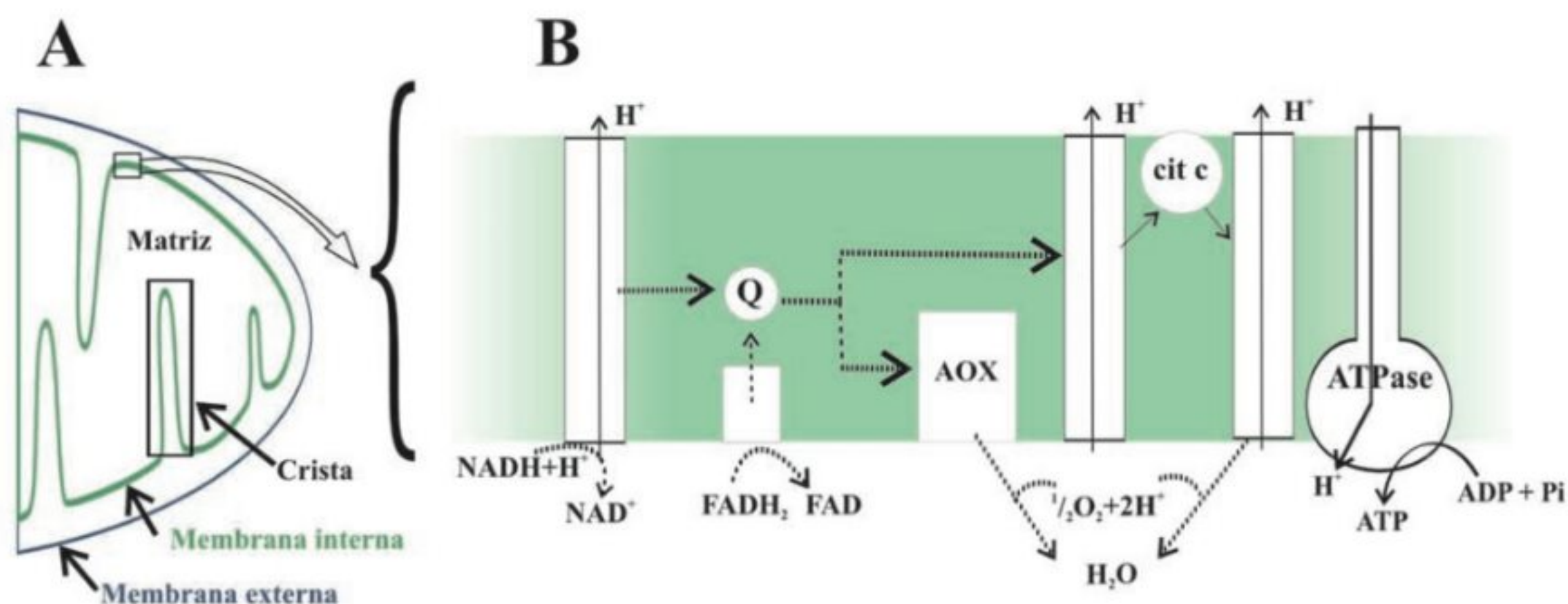
A Fig. 7.6 descreve algumas das ligações do CAT com o metabolismo de compostos essenciais para as células, como por exemplo os ácidos nucleicos, lipídios, proteínas e compostos secundários.

**FIGURA 7.3**

Via glicolítica da respiração em plantas. Ao lado dos nomes dos compostos são apresentadas suas respectivas fórmulas. Note que esta via consiste em fragmentar a glicose de modo a produzir compostos de três carbonos; no final o piruvato que entra na mitocôndria servirá de substrato para o ciclo de Krebs. Na falta de oxigênio, o piruvato pode ser reduzido a lactato ou então descarboxilado, produzindo etanol, e este processo é chamado de fermentação.

**FIGURA 7.4**

Ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ou ciclo de Krebs), o qual é importante para a produção de compostos redutores que irão atuar na cadeia de transporte de elétrons e também na produção de esqueletos de carbono para a síntese de diversos compostos celulares. O ciclo tem início com o piruvato produzido pela glicólise e as reações subseqüentes ocorrem na matriz mitocondrial (ver Fig. 7.5A). Os carbonos em vermelho são provenientes da acetil-CoA. Note que o succinato é uma molécula simétrica e qualquer uma das extremidades pode servir de substrato para as etapas subseqüentes, o que impede o acompanhamento do destino dos carbonos provenientes da acetil-CoA.

**FIGURA 7.5**

Cadeia de transporte de elétrons (B). Os compostos redutores produzidos nos outros passos da respiração (glicólise e ciclo de Krebs) são utilizados por complexos protéicos que transferem os elétrons até a redução do oxigênio e a formação de água. Este processo ocorre na membrana interna da mitocôndria (A). Em plantas, há uma via alternativa (AOX) na qual a transferência de elétrons e a redução do oxigênio podem ser feitas diretamente, sem a passagem por dois dos complexos e com conseqüente produção de calor (B).

Através da via das pentoses, são produzidas moléculas de açúcares de cinco carbonos (ribose e xilose por exemplo), que são fundamentais para a síntese de DNA e RNA e para polissacarídeos de grande importância nos tecidos vasculares (xilanos). É dessa via que surgem as citocininas, que exercem papel crucial no desenvolvimento vegetal (ver Cap. 10, Citocininas).

A acetil-CoA serve de base para a síntese de lipídios e também para as vias de biossíntese de isoprenóides e terpenos, que, por sua vez, irão servir respectivamente de esqueletos básicos para a síntese dos hormônios vegetais giberelinas e ácido abscísico (ver Caps. 11, Giberelinas, e 12, Ácido Abscísico).

Mais à frente, no CAT, o alfa-cetoglutarato serve como base para a síntese de diversos aminoácidos, bem como de esqueletos básicos para a síntese de compostos vitais para as plantas, tais como as clorofilas e o fitocromo.

Outra parte dos aminoácidos é derivada do oxaloacetato, o qual, juntamente com o fosfoenolpiruvato, serve de base para a chamada *via do ácido chiquímico*, da qual derivam os alcalóides, flavonóides e ligninas. É também nessa via que é produzido o ácido indolil 3-acético (AIA), fitormônio com papel proeminente no desenvolvimento das plantas (ver Cap. 9, Auxinas).

No que concerne à função energética do CAT, é importante salientar que alguns aspectos morfológicos das mitocôndrias são essenciais para entender sua participação e seu acoplamento com o processo de transporte de elétrons, que é o passo final que irá produzir, proporcionalmente, a maior quantidade de energia para a célula.

A mitocôndria possui duas membranas (Fig. 7.5), o que possibilita a existência de um compartimento entre elas, para onde os prótons são bombeados, e isso, como veremos adiante, é essencial para a produção de ATP. O $\text{NADH} + \text{H}^+$ e o FADH_2 , produzidos pela oxidação do piruvato (ou seja, do CAT), doam seus elétrons para um conjunto de complexos protéicos presentes na membrana

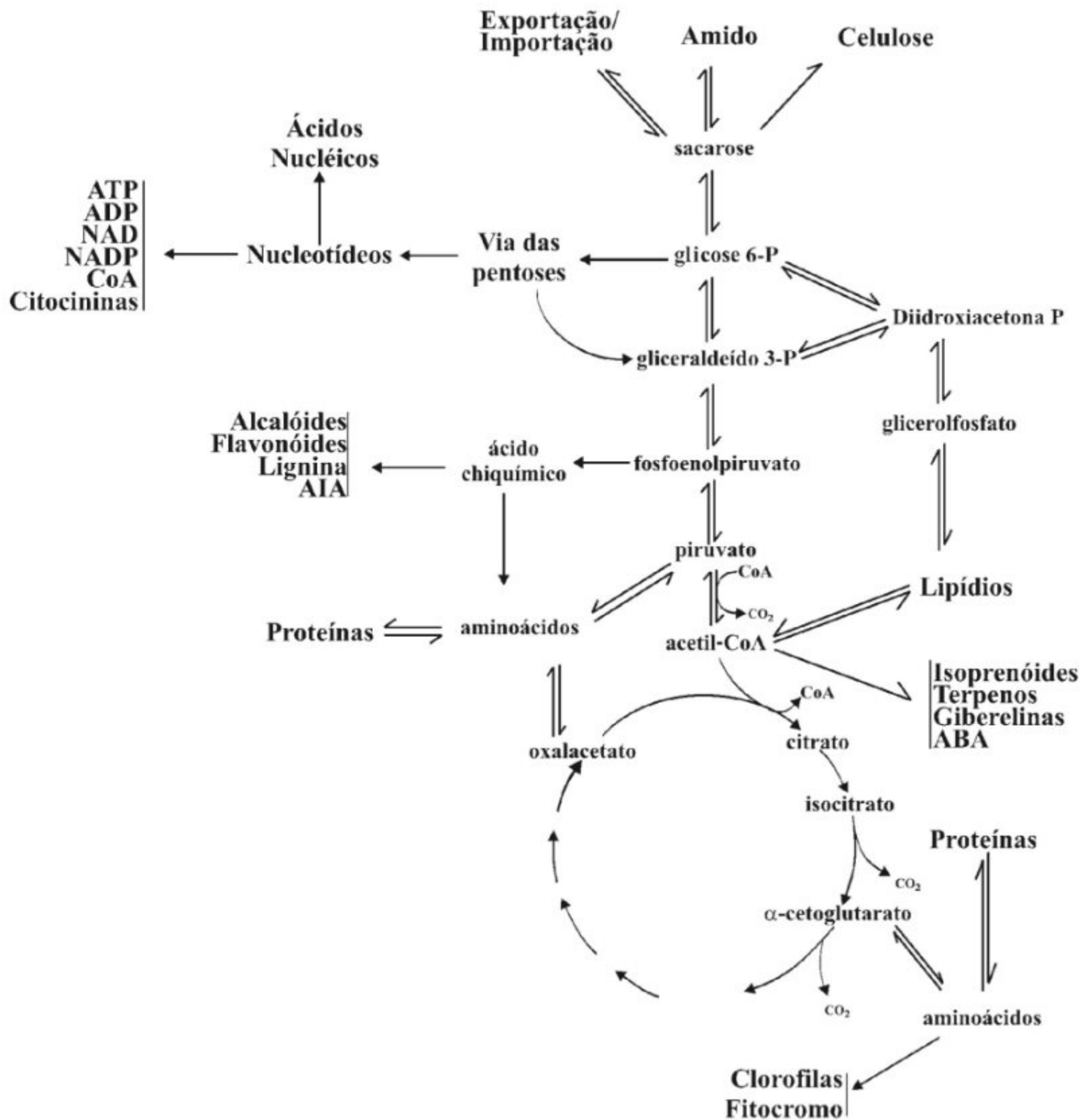
interna da mitocôndria, levando ao terceiro e último passo da respiração, conhecido como cadeia de transporte de elétrons.

Cadeia de transporte de elétrons

A energia potencial armazenada em moléculas de NAD e FAD reduzidos (ou seja, $\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2) produzidas nas etapas anteriores (glicólise e ciclo de Krebs) será utilizada para a produção de ATP no passo final da respiração, chamada *cadeia de transporte de elétrons ou cadeia respiratória*. Este processo ocorre nas cristas (membranas internas) mitocondriais (Fig. 7.5A).

Nesse processo, os elétrons são transferidos para complexos protéicos que possuem potencial de óxido-redução cada vez mais baixo. Associado a essa transferência de elétrons, há um fluxo de prótons (H^+) da matriz para o espaço entre as membranas da mitocôndria (Fig. 7.5B). Ao final desta cadeia de transporte de elétrons, cada par de elétrons é doado para um oxigênio ($\frac{1}{2}\text{O}_2$) junto com dois prótons (H^+), formando moléculas de água. O gradiente de pH assim gerado no espaço entre as membranas e a matriz da mitocôndria constitui uma reserva de energia potencial eletroquímica. Além destas proteínas envolvidas no transporte de elétrons, a membrana interna da mitocôndria possui um complexo enzimático por onde os prótons podem voltar à matriz a favor do gradiente de concentração. Ao deixar passar os prótons, esse complexo usa a energia liberada para fosforilar o ADP, produzindo ATP.

A cadeia respiratória é a principal fonte de ATP das células. Embora seja difícil precisar o rendimento do processo, cerca de dois ou três prótons são bombeados ao espaço entre as membranas para cada elétron que flui pelo sistema (cada $\text{NADH} + \text{H}^+$ oxidado). Isso corresponde a cerca de 3 ATPs para cada NAD reduzido no ciclo do ácido tricarboxílico e 2 ATPs por FADH_2 , pois a oxidação deste último é ligeiramente diferente. No final,

**FIGURA 7.6**

Relações entre o processo respiratório e outras vias do metabolismo de carbono nos vegetais. Note que as principais substâncias do metabolismo estão ligadas direta ou indiretamente ao metabolismo respiratório. Todos esses compostos têm que ser produzidos em maior ou menor intensidade durante o dia-a-dia da planta. Assim, em cada célula da planta, o fluxo pode ser aumentado ou diminuído conforme a necessidade. Esse equilíbrio, que é dinâmico, faz parte da homeostase da planta como um todo.

o rendimento geral de produção de ATP pela mitocôndria é de 12 a 17 ATPs por molécula de piruvato (ou 24 a 34 ATPs por molécula de glicose).

Na Tabela 7.1 é mostrado o balanço geral com valores aproximados de produção de ATP nas diferentes etapas do processo respiratório. Vale a pena ressaltar que a cadeia respiratória produz cerca de 90% do ATP do processo respiratório como um todo. Por outro lado, a parte do processo que não necessita de oxigênio (a glicólise) produz somente 2 ATPs, ou seja, apenas 5% da energia do processo.

Via da ubiquinona ou via alternativa de transporte de elétrons

As mitocôndrias das plantas possuem peculiaridades que não são comuns em outros organismos. Uma propriedade importante delas é a presença de uma rota alternativa de transporte de elétrons (Fig. 7.5B).

A cadeia de transporte de elétrons pode ser interrompida por certos compostos químicos, como o cianeto, o monóxido de carbono e a rotenona. O cianeto, por exemplo, é bem

TABELA 7.1
Balanco com valores aproximados de
produção de ATP na respiração

Citossol	Rendimento	Etapa
2 ATPs	2	Glicólise
2 NADH+H ⁺	6	Glicólise
Total do citossol	8	
Mitocôndria		
8 NADH+H ⁺	24	CTE
2 FADH ₂	2	CTE
2 ATP	2	CAT
Total da organela	30	
Total da respiração	38	

conhecido como um potente e perigoso agente que pode levar animais à morte rapidamente. No entanto, esta inibição não é tão evidente em plantas. As mitocôndrias das células vegetais possuem uma proteína a mais na cadeia de transporte de elétrons (chamada de desidrogenase alternativa), que permite que o transporte de elétrons ocorra sem a necessidade de uso de todos os complexos protéicos presentes na cadeia respiratória. Além disso, este sistema ainda é capaz de efetuar a redução do oxigênio. Um dos resultados dessa via alternativa é a produção de calor. Quando os elétrons passam através da via alternativa, dois dos complexos protéicos de transporte são evitados e não há a formação de ATP. Com isso, a energia, que nesses dois passos seria armazenada no ATP, é liberada na forma de calor.

Alguns estudos têm mostrado que, em certos casos, as plantas podem utilizar esse “artifício” de produção de calor para obter vantagens ecofisiológicas. Por exemplo, a geração de calor por certas flores pode estimular a volatilização de compostos que irão servir para sinalizar sua presença e posição para polinizadores. Desse modo, a respiração está sendo usada como meio de comunicação entre certas plantas e animais.

Fermentação

Em situações nas quais a disponibilidade de oxigênio é baixa, a célula não pode completar as três fases da respiração, pois a falta de oxigênio impede a oxidação do citocromo, bloqueando todas as etapas anteriores da cadeia de transporte de elétrons. Tal impedimento é crucial para a produção de energia, pois, conforme descrito acima, a cadeia de transporte de elétrons é a parte responsável pela produção da maior quantidade de ATP (Tabela 7.1).

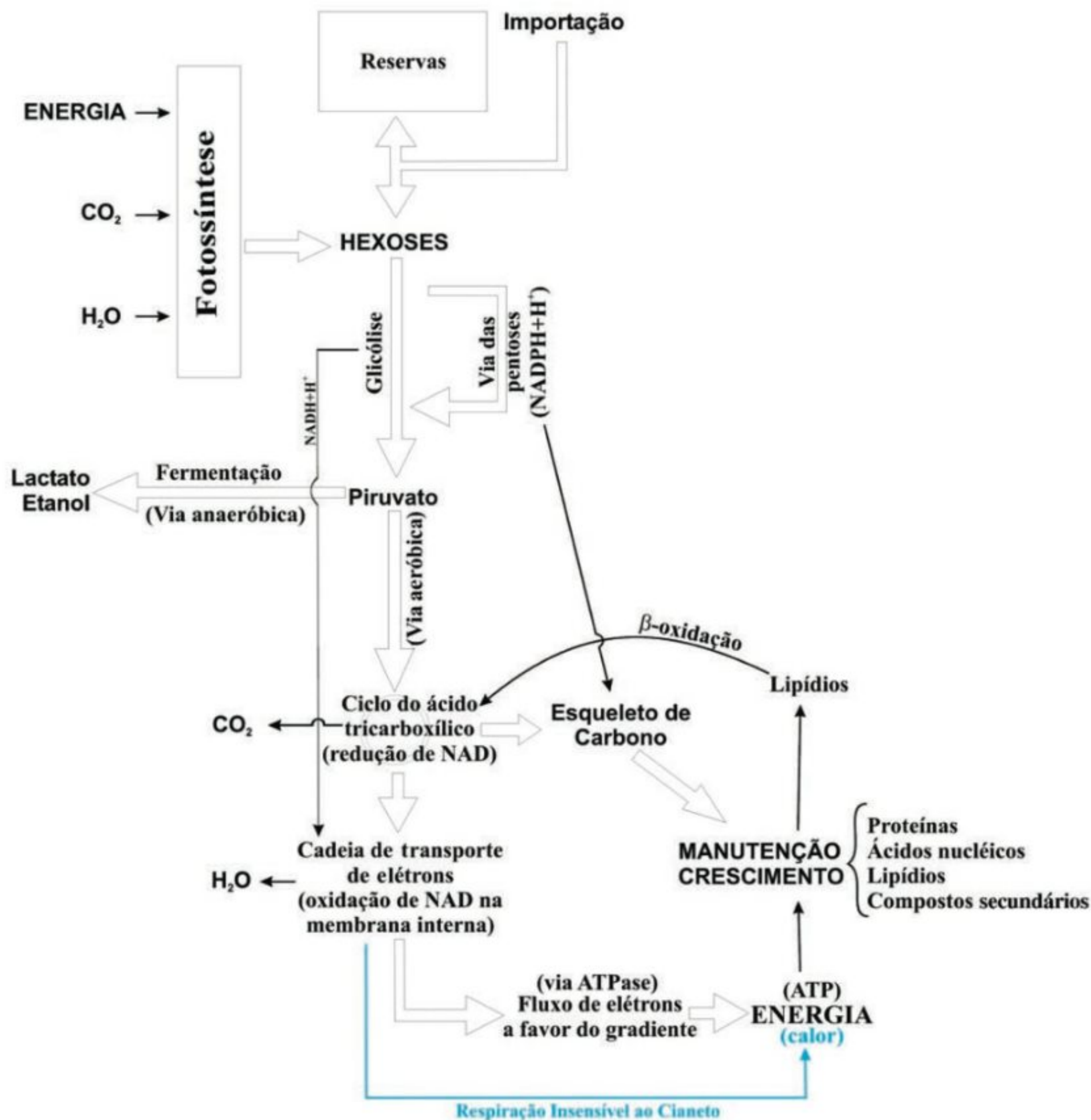
Esta situação pode ocorrer em raízes, quando o solo é inundado, por exemplo. Nestes tecidos, o fluxo de carbono é desviado no final da via glicolítica e o piruvato é reduzido pela enzima desi-

drogenase do lactato, produzindo lactato (Fig. 7.3). Esse estado metabólico, no entanto, não pode ser mantido prolongadamente, pois o acúmulo de lactato leva à acidificação do citossol e, eventualmente, à morte da célula. Para evitar esta situação, o piruvato pode ser descarboxilado a acetaldeído e este reduzido a etanol (Fig. 7.3). Os problemas causados pelo acúmulo de etanol são inferiores aos causados pelo acúmulo do lactato, desde que não haja acúmulo de acetaldeído.

Foi verificado que, em ervilha, por exemplo, a concentração de etanol na seiva do xilema em solos inundados podia chegar a 90 mM. Caso a planta seja cultivada em laboratório em um substrato com etanol (cerca de 4 mM, como encontrado em solos inundados), a concentração de etanol da seiva pode chegar a 970 mM. Os problemas provocados pela fermentação, portanto, estão mais relacionados à baixa produção de ATP e suas consequências metabólicas, uma vez que, sem a cadeia de transporte de elétrons, apenas duas moléculas de ATP produzidas na via glicolítica são geradas para cada glicose, contra cerca de 38 produzidas na presença de oxigênio. Alguns processos fisiológicos possuem efeitos diretos sobre as consequências da condição de hipoxia. A redução de nitrato, por exemplo, não só libera HO⁻, o que ajuda a minimizar a acidose do citossol, mas também oxida NADH+H⁺, gerando NAD, que pode ser utilizado no ciclo do ácido tricarbóxico, minimizando o acúmulo de ácidos orgânicos na mitocôndria. Em plantas que se desenvolvem em solos permanentemente alagados, no entanto, adaptações específicas como pneumatóforos, por exemplo, são necessárias para evitar a condição permanente de hipoxia e permitir o desenvolvimento (ver adiante).

O fluxo respiratório varia com o estado fisiológico da célula

Pelo que foi visto até agora, as diferentes fases da respiração podem dar uma idéia de que o fluxo do carbono e a energia no processo sejam constantes em todas as células e que, portanto, a distribuição dos produtos da glicólise, CAT e transporte de elétrons (produtos intermediários, energia em forma de ATP e calor) sejam também constantes. No entanto, o processo como um todo é extremamente dinâmico e interligado por diversas vias, de forma que, dependendo da função da célula em um determinado órgão, alguns produtos podem apresentar-se em maior quantidade em um dado momento. A Fig. 7.7 mostra o processo como um todo e suas principais interligações. Nela é salientado o papel fundamental das hexoses, cuja entrada no sistema ocorre por meio da fotossíntese, mobilização de reservas, e pelo uso da energia contida na hexose para possibilitar a manutenção e o crescimento dos tecidos vegetais. Assim, por exemplo, num determinado órgão pode estar ocorrendo fermentação (em caso de inundação, por exemplo), uso da via alternativa insensível ao cianeto para a produção de calor, ou ainda a produção de grandes quantidades de carboidratos e proteínas caso esteja ocorrendo armazenamento de reservas em sementes. O sistema pode, em um dado momento, estar voltado para a produção de compostos do

**FIGURA 7.7**

A figura salienta as relações entre a respiração e a fotossíntese, por um lado, e os eventos ligados à manutenção e ao crescimento, por outro lado. Embora o carbono entre na planta exclusivamente através da fotossíntese, nem todos os tecidos são fotossintéticos. Por isso, há a necessidade de acúmulo de reserva e de mecanismos de transporte (importação) que possibilitem a respiração em tecidos não fotossintéticos, fazendo com que haja um fluxo contínuo de hexoses no sistema respiratório em toda a planta. Tal continuidade é crucial para a respiração de manutenção, que é vital para a manutenção e o funcionamento da célula.

metabolismo secundário, como, por exemplo, no caso de ataque de um patógeno.

Esta flexibilidade de resposta ao ambiente interno e externo é fundamental para a sobrevivência da planta, sendo o controle homeostático do metabolismo extremamente complexo, com mecanismos de controle de diversos tipos. O controle de uma determinada via pode ser feito diretamente por inibição ou ativação de uma enzima por um cofator, pelo próprio substrato da enzima ou complexo enzimático ou ainda pela ação de fitor-

mônios que podem levar a alterações na transcrição de genes que alteram as demandas de compostos por uma determinada via.

É importante salientar que o processo respiratório como um todo não apresenta um único ponto de controle. A integração das outras vias metabólicas com a respiração compreende um grande número de pontos de controle que trabalham de forma integrada e equilibrada. Embora se tenha um conhecimento razoável sobre o funcionamento das vias metabólicas que formam o processo respiratório das plantas, as formas de integração com outros processos

ainda são pouco conhecidas e deverão, em parte, ser elucidadas através de estudos mais aprofundados de modelagem e simulações computacionais com algoritmos matemáticos.

Pode-se concluir, a partir do esquema da Fig. 7.6, que o processo respiratório é central e fundamental para toda a célula, estando relacionado direta ou indiretamente com todo o metabolismo celular.

Há, porém, um outro nível de integração que não foi contemplado nas apreciações acima: a integração entre células e órgãos. A seguir, serão descritas as características do processo de respiração nos diferentes órgãos das plantas, procurando mostrar que o processo respiratório é dinâmico também em nível dos órgãos vegetais.

RESPIRAÇÃO NOS TECIDOS E ÓRGÃOS

Quando consideramos a respiração na planta, geralmente nos referimos às trocas gasosas realizadas pelos órgãos, e não ao processo molecular de oxidação da glicose. A taxa respiratória é variável de acordo com o tipo de órgão, idade, ambiente, estação etc. Cada órgão vegetal respira independentemente e recebe, quase sempre, carboidratos (geralmente sacarose) para “queimar”, no processo de respiração celular. A seguir, serão apresentadas as características do processo respiratório em cada órgão da planta.

Raízes

As raízes são órgãos que respiram muito e intensamente. O substrato utilizado no processo é constituído por carboidratos vindos da parte aérea pelo floema, a partir as folhas, que são os órgãos responsáveis pela fotossíntese (ver Caps. 6, Transporte no Floema, e 21, Tuberização).

A energia que é liberada pela respiração radicular é utilizada para a síntese dos componentes celulares, para formação das estruturas secundárias (quando houver), nos processos de absorção e acúmulo de nutrientes minerais e também de reserva alimentar. Raízes primárias e raízes jovens respiram muito mais intensamente do que as raízes com crescimento secundário. A explicação para tal fenômeno é muito simples: raízes primárias e jovens têm meristemas em contínuo processo de alongamento e diferenciação, que são processos dispendiosos do ponto de vista energético. Raízes em crescimento secundário também têm as células meristemáticas do câmbio e as anexas que respiram intensamente.

Nas raízes, o oxigênio necessário para que ocorra o processo respiratório advém principalmente do próprio solo, podendo vir também da parte aérea. Para a raiz retirar o oxigênio do solo há a necessidade de este apresentar boa aeração, o que facilita as trocas gasosas com a raiz. Quando a atividade respiratória é intensa, o oxigênio pode vir também da parte aérea. A proporção entre uma fonte ou outra depende exclusivamente da espécie vegetal. Plantas de manguezais ou de pântanos retiram oxigênio do ar, devido à baixa quantidade de oxigênio dissolvido na água

ou presente no solo. Para tanto, desenvolveram uma estrutura especial para as trocas gasosas denominada *pneumatóforos* (p. ex., *Avicenia nitida* e *Rhizophora mangle*). Outras plantas podem apresentar respiração anaeróbica (p. ex., *Nuphar*).

Raízes aquáticas apresentam um tipo de parênquima adaptado à função de reserva de ar — o *aerênquima* — que, além de permitir a flutuação da planta, retém oxigênio para o processo respiratório (p. ex., *Ludwigia* sp). A formação de aerênquima nas raízes pode ser induzida em uma planta não adaptada à anoxia através do alagamento, quando ocorre a indução de uma enzima denominada celulase (que digere a celulose das paredes celulares [Ver Cap. 8, Parede Celular]) em regiões específicas do tecido radicular, de forma a aumentar os espaços internos do tecido.

Caule

Os caules verdes, suculentos, que apresentam estrutura primária, fazem trocas gasosas com o meio através da epiderme, enquanto naqueles com crescimento secundário geralmente o O_2 é proveniente das folhas. Nesses caules, a respiração é mais intensa na região do câmbio vascular e felogênio, onde novas células estão se formando, crescendo e diferenciando. As trocas gasosas nos caules com crescimento secundário são muito baixas e por isso o O_2 difunde-se pelas células caulinares. Alguns tipos de caule podem apresentar estruturas conhecidas como *lenticelas* (Fig. 7.8), que facilitam as trocas gasosas com o meio.

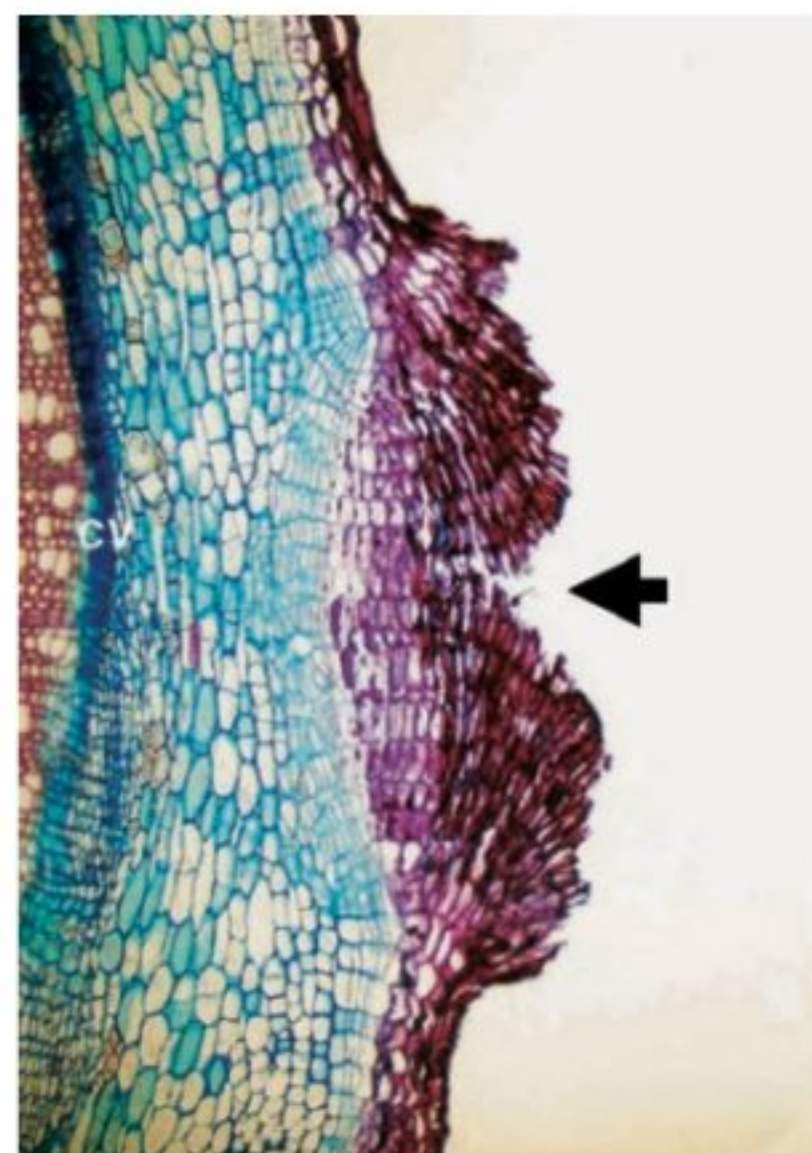


FIGURA 7.8

Lenticela (seta) do caule de sabugueiro (*Sambucus*). Tal estrutura facilita a entrada e a conseqüente chegada do oxigênio às células do câmbio vascular (cv), que se dividem intensamente durante o crescimento secundário. Na parte em vermelho à direita, a abertura central (seta) é tida como um local de entrada de oxigênio. Foto: Solange Mazzoni-Viveiros.

Em cactáceas, as trocas gasosas ocorrem somente à noite, com a abertura dos estômatos (ver Plantas MAC no Cap. 5, Fotosíntese). Em caules subterrâneos, o O_2 difunde-se de célula a célula, como no caso de *Allium cepa* (alho) e *Solanum tuberosus* (batata). Os caules aquáticos apresentam grande quantidade de aerênquima, que, além da flutuação, acumulam O_2 para facilitar a respiração (p. ex., *Nymphaea*, *Victoria amazonica*).

Folhas

De todos os órgãos vegetais, as folhas são as que mais realizam trocas com o ambiente. Os estômatos (Fig. 7.9) são as estruturas responsáveis pela maior parte das trocas realizadas pelo órgão. A liberação de CO_2 pelas folhas é determinada pela razão CO_2/cm^2 da área foliar e é praticamente constante desde o início da sua formação até a morte. Em folhas de feijão, por exemplo, a taxa respiratória de manutenção chega a ser dez vezes mais alta no período inicial de desenvolvimento, baixando drasticamente conforme as folhas se expandem. Ao mesmo tempo, a taxa respiratória relacionada ao crescimento tem um pico durante o intervalo de taxas máximas de expansão foliar, voltando gradativamente aos patamares iniciais.

Em folhas próximas da abscisão, há um aumento expressivo na taxa respiratória que diminui algum tempo antes de a folha cair. Este fenômeno está possivelmente relacionado com a reab-

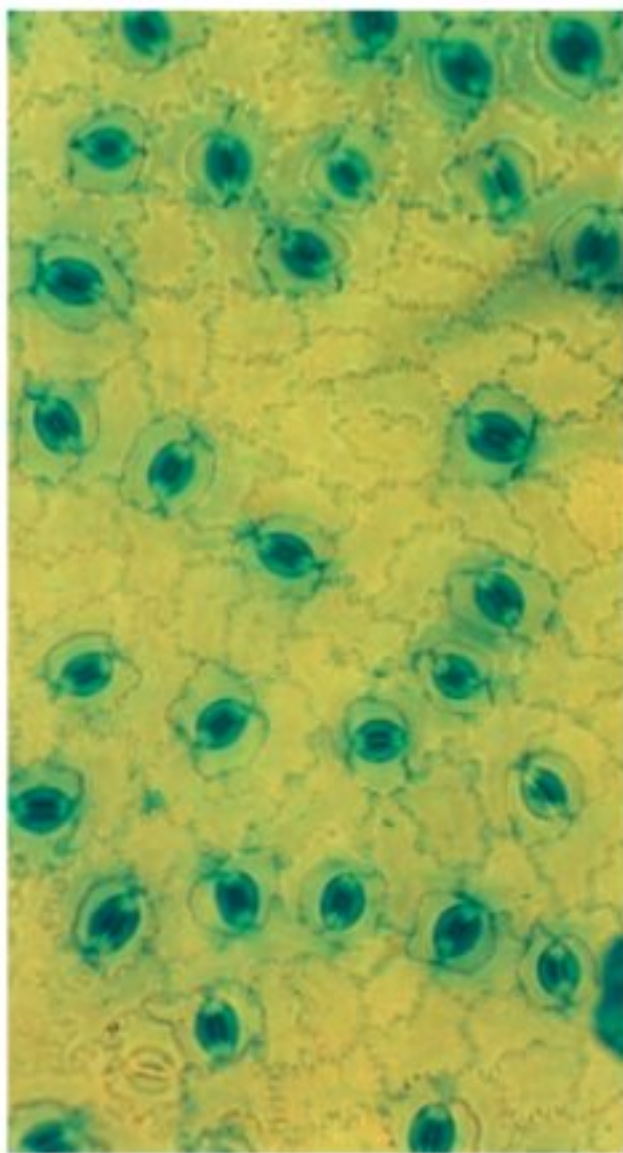


FIGURA 7.9

Foto de microscopia de luz, mostrando a superfície abaxial (inferior) de uma folha de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). Em amarelo são as células da epiderme e em azul-escuro as células guardas dos estômatos, tendo, ao lado de cada uma, células levemente esverdeadas chamadas de células companheiras. Nas folhas, as trocas gasosas ocorrem predominantemente nos estômatos. Foto: Paula F. Costa, Solange Mazzoni-Viveiros e Marcos S. Buckeridge.

sorção de compostos (p. ex., íons, aminoácidos e açúcares), com o seu armazenamento como reserva caso a planta esteja adaptada a ambientes com variações sazonais (biomas de regiões temperadas e no cerrado, por exemplo), ou podem ser diretamente incorporados em outras partes da planta caso a sazonalidade seja menor.

Os mecanismos de senescência e abscisão foliar estão relacionados à atividade de uma série de hormônios vegetais, tais como as citocininas, as auxinas e o ácido abscísico, que, direta ou indiretamente, promovem um aumento da taxa respiratória relacionada ao crescimento até a queda foliar.

Quando a expansão foliar atinge o máximo, taxas elevadas de assimilação de CO_2 (fotosíntese) são também atingidas. Esperava-se, nesse momento, que a taxa respiratória diminuísse para não haver queda na incorporação de CO_2 e, portanto, produção menor de carboidratos. Mas isso não acontece: a liberação de CO_2 é mantida constante devido à taxa respiratória de manutenção da fotosíntese, de forma que em geral só há decréscimo quando a folha já está praticamente morta.

A manutenção da taxa respiratória nessas condições pode ser explicada pela degradação de outras substâncias, como as proteínas. Além disso, há a via das pentose-fosfatos (Fig. 7.6), que é muito importante quando a folha atinge expansão máxima, pois é uma via essencial, por exemplo, para a síntese de ácidos nucleicos e carboidratos. Esta via, além de produzir CO_2 , ainda regenera alguns carboidratos que podem voltar à glicólise e posteriormente serem degradados no ciclo de Krebs. A pentose-fosfato (ribose-5-fosfato) ainda pode dar origem a um outro açúcar, a eritrose-4-fosfato, que não produz CO_2 , mas origina pigmentos presentes em pétalas e frutos, colorindo-os.

Flores e frutos

O processo de floração envolve normalmente uma grande demanda respiratória em plantas. Além da necessidade de construir os tecidos florais, após o desenvolvimento da flor, há diversos processos relacionados à polinização, que envolvem em muitos casos a “comunicação” com animais polinizadores.

Em muitas espécies, devido à estratégia ecológica de produção de grande número de flores, que ao final do processo são abortadas em sua maioria, a demanda de energia é bastante elevada. Nesse caso, parece haver, durante o período reprodutivo, uma priorização da energia para este processo em detrimento de outros processos de desenvolvimento.

Em regra, a consequência do sucesso da fecundação resulta na formação de frutos. Estes apresentam uma alta taxa respiratória logo no início da sua formação, ou mesmo antes de serem formados. Ainda durante a formação do tubo polínico, ocorre um aumento nos teores de AIA no ovário da flor. Concomitantemente, há um aumento da taxa respiratória que está possivelmente relacionado à intensificação da atividade metabólica no ovário. Após a fecundação, a necessária translocação de nutrientes das folhas vizinhas para o ovário envolve um gasto energético considerável. Uma vez o fruto formado, a alocação de nutrientes e a produção dos diversos tipos celulares que arma-

zenam esses nutrientes passam a apresentar taxa respiratória mais baixa. No processo de amadurecimento de certos frutos ocorre um aumento rápido e intenso da taxa respiratória chamado de *climatério*. Nos frutos climatéricos (abacate, maçã, banana, entre outros) ocorre a produção de etileno (outro hormônio vegetal), acelerando o amadurecimento (hidrólise de amido, síntese de pigmentos etc.) e senescência. Tratamentos com etileno aceleram o amadurecimento de frutos climatéricos, sendo este procedimento comumente utilizado para fins comerciais. Outros frutos não apresentam climatério e, mesmo adicionando-se etileno, não ocorre tal fenômeno. Isto pode ser observado em laranja, abacaxi, uva etc.

O efeito da temperatura sobre a taxa respiratória dos frutos também pode ser facilmente observado, isto é, baixas temperaturas retardam a senescência dos frutos, fazendo com que a taxa respiratória mantenha-se baixa. Por outro lado, temperaturas elevadas, principalmente à noite, aumentam a taxa respiratória e aceleram o amadurecimento de frutos. Baixas concentrações de O_2 , sob redução da temperatura ambiente, podem estimular a respiração anaeróbica, mais precisamente a fermentação, enquanto altas concentrações de CO_2 inibem a produção de etileno pelo fruto, retardando o amadurecimento. Na estocagem de frutos (pós-colheita), combina-se a redução da temperatura e de O_2 com um aumento na concentração de CO_2 . Os três fatores atuando juntos mantêm as taxas respiratórias do fruto em níveis suficientemente baixos, retardando assim o amadurecimento. Sob condições favoráveis de armazenamento, frutos de maçã colhidos em março–abril (no Brasil), podem manter suas propriedades inalteradas por até um ano.

É importante salientar que a classificação dos frutos em climatéricos e não-climatéricos não é rígida, pois muitos frutos apresentam liberação irregular de CO_2 , como, por exemplo, a jaca (*Artocarpus integrifolia*) e o jambo (*Eugenia malecensis*).

Sementes

Durante o processo de germinação, com o aumento da entrada de água por embebição, o metabolismo celular é reativado. Esta reativação metabólica provoca uma série de mudanças fisiológicas (ver Cap. 20, Germinação). Uma das conseqüências é o aumento da taxa respiratória, associado à necessidade da utilização das reservas energéticas existentes no endosperma ou nos cotilédones. Nesse período, há a hidrólise de óleos por β -oxidação, a produção de açúcares, fitormônios e diversas enzimas hidrolíticas (proteases, β -galactosidases, α -amilases, β -glucanases, nucleases etc.). Como conseqüência, o amido ou outros polissacarídeos de reserva, proteínas e aminoácidos são utilizados em parte na respiração, cuja taxa elevada deve-se ao crescimento do eixo embrionário.

Para que o processo respiratório ocorra há a necessidade de O_2 disponível no solo, já que a grande maioria das sementes germina em boas condições aeróbicas. Durante a germinação, as sementes utilizam, como fonte inicial de carbono na respiração, a sacarose e oligossacarídeos da série rafínica (feijão, lentilha e ervilha). Estes já se encontram estocados quando da maturação da semente

e são degradados rapidamente à medida que a taxa respiratória aumenta. A vantagem para as sementes em armazenarem esses compostos é o acesso rápido, uma vez que são solúveis e estão presentes no citoplasma e disponíveis para o uso imediato. Com isso, logo após a embebição a semente perde massa e libera CO_2 , produzindo a energia necessária para o desenvolvimento inicial da nova planta. Esta reserva inicial é crucial para a germinação, e, dependendo da estratégia de estabelecimento da plântula, os cotilédones podem ainda possuir grandes quantidades de reservas de carbono (como no jatobá e em diversos cultivares, como feijão e soja), que serão utilizadas também na produção de energia pela via respiratória.

Alguns tipos de sementes germinam com pouco ou mesmo na ausência de oxigênio disponível, como é caso do chamado arroz de várzeas, onde as condições de germinação são praticamente anaeróbicas e a obtenção de energia se dá através do processo de anaerobiose (fermentação). Sementes de plantas de manguezais utilizam também a fermentação para a germinação, sendo este processo anaeróbico a única alternativa que estas sementes dispõem para liberar H^+ dos $NADH+H^+$ acumulados.

CONTROLE DA RESPIRAÇÃO NAS PLANTAS POR FATORES INTERNOS

Disponibilidade de substrato

Os principais substratos do processo respiratório são carboidratos e lipídios. Estes substratos se originam, direta ou indiretamente, do processo fotossintético (ver Cap. 5, Fotossíntese). Apesar de as taxas respiratórias em diferentes órgãos em fases distintas de desenvolvimento poderem variar dentro de determinados limites, todas as células têm que manter constante (ou pelo menos dentro de limites mais estreitos) a taxa respiratória de manutenção. Qualquer fator que influencie na diminuição das quantidades destes substratos, e sua produção, ocasionará uma diminuição da taxa respiratória do órgão ou mesmo da planta inteira. Portanto, a taxa respiratória não pode estar diretamente ligada à fotossíntese, pois este processo é extremamente variável e dependente de condições ambientais cíclicas (luz e temperatura). Neste sentido, a solução parcial para o problema da disponibilidade contínua de substrato é o armazenamento de açúcares de reserva para que seja possível sua utilização durante o período em que a fotossíntese não está ativa. Nas folhas, as plantas armazenam amido durante o período fotossintético e o mobilizam para processos respiratórios, de forma que variações muito intensas nas taxas respiratórias possam ser minimizadas. Neste caso, a reserva pode ser considerada de curto prazo, pois o processo inteiro leva um único dia.

Há outras formas de armazenamento de reserva por um prazo mais longo para o processo respiratório relacionado ao desenvolvimento da planta como um todo ou de parte dela. Assim, por exemplo, em sementes que armazenam grandes quantidades de amido, polissacarídeos de reserva de parede celular ou lipídios. Tais compostos são degradados após a germinação, e devido ao fato de seus produtos de degradação gerarem com-

postos distintos (sacarose no caso de carboidratos, aminoácidos no caso das proteínas e acetil-CoA no caso dos lipídios), a existência de respiração ligada à mobilização de diferentes compostos de reserva pode ser observada através do quociente respiratório (Quadro 7.2).

Em sementes, a degradação das reservas ocorre rapidamente, e isso aumenta, intensamente e de forma transitória, a disponibilidade de substrato para a respiração, o que permite um maior consumo de energia durante o desenvolvimento inicial da plântula. Um processo similar pode ocorrer em plantas herbáceas do cerrado que possuem órgãos subterrâneos de reserva. Em plantas da família das asteráceas, por exemplo, os órgãos subterrâneos podem armazenar quantidades substanciais de frutanos (polissacarídeos compostos principalmente de frutose). Plantas que adotam esta estratégia de estabelecimento e adaptação podem perder a parte aérea durante o inverno, quando há baixa disponibilidade de água no cerrado. Na primavera, ocorre a degradação do polissacarídeo produzindo frutose livre, que acaba sendo metabolizada à sacarose, a qual é transportada para os órgãos em crescimento que utilizam os açúcares no processo respiratório com taxas mais elevadas devido ao processo de desenvolvimento em curso.

QUADRO 7.2 Quociente respiratório

Quociente respiratório é a relação entre a quantidade de moléculas de gás carbônico liberado pela oxidação de um substrato no processo respiratório e a quantidade de moléculas de oxigênio consumidas para oxidar esse substrato. Por exemplo, a completa degradação de uma molécula de glicose no processo respiratório consome seis moléculas de O_2 e libera seis moléculas de CO_2 . A razão entre o CO_2 liberado e o O_2 consumido é o quociente respiratório, que, no caso, $QR = 1,0$ para a glicose. Isto acontece porque na molécula de glicose o número de átomos de oxigênio é igual ao de átomos de carbono.



$$QR = \frac{6CO_2}{6O_2} = 1,0$$

Quando o substrato degradado possui um número de átomos de oxigênio inferior ao número de átomos de carbono, o resultado do QR será um valor menor do que 1,0, como ocorre no caso de uso de lipídios ou proteínas na respiração. Como exemplo temos o ácido esteárico:



$$QR = \frac{18CO_2}{26O_2} = 0,69$$

Quando o QR é maior do que 1,0, há a indicação de que o substrato ou é rico em oxigênio (ácido oxálico – $2C_2H_2O_4$ – $QR = 4,0$) ou está ocorrendo respiração anaeróbica, já que em anaerobiose o consumo de oxigênio é nulo!

Quantidade de oxigênio

A concentração de O_2 no ar (21% de oxigênio) é de aproximadamente $265 \mu\text{M}$. Por outro lado, a K_m ¹ da enzima que usa o oxigênio, a oxidase do citocromo c, é de aproximadamente $1 \mu\text{M}$. Portanto, como a afinidade da enzima é muito maior que a concentração atmosférica de O_2 , poder-se-ia supor que a respiração não apresentasse dependência da concentração de oxigênio atmosférico.

Porém, há um outro problema. Ao entrar no tecido vegetal, o oxigênio passa de uma fase gasosa para uma fase líquida, em que a sua taxa de difusão é cerca de dez mil vezes menor do que no ar. Neste caso, a taxa de difusão pode ser um problema, pois se sabe que tensões de oxigênio menores do que 5% podem ser limitantes para a respiração.

Aparentemente, as plantas solucionaram este problema desenvolvendo rotas gasosas de difusão através de espaços intercelulares. Neste caso, a limitação de difusão deixa de ser importante e permite que o oxigênio se difunda pelos espaços intercelulares dos tecidos vegetais, garantido que este chegue em abundância ao seu local de consumo.

De um modo geral, as plantas não são tão ativas quanto os animais, satisfazendo-se com baixas concentrações de oxigênio, entre 1% e 2%, as quais são suficientes para a manutenção das taxas respiratórias do vegetal. A concentração de O_2 na atmosfera é estável e portanto não é a causa responsável pelas variações na taxa respiratória. No entanto, essas variações ocorrem devido à disponibilidade de oxigênio para as células. Durante as horas de exposição à luz, tecidos fotossintéticos produzem O_2 e, ao mesmo tempo, consomem parte dele na respiração. À noite não há produção de O_2 , mas este é difundido no interior da planta através dos espaços intercelulares. Mesmo com os estômatos fechados o O_2 difunde-se para o interior do vegetal através da cutícula, que não é totalmente impermeável ao gás, cuja resistência à entrada é compensada pela concentração na atmosfera de O_2 , que é muito maior que dentro do vegetal.

A disponibilidade de oxigênio é mais crítica para as raízes, pois o O_2 disponível no solo é utilizado também por fungos, bactérias, protozoários e animais que ali vivem. Durante e após as chuvas, o ar do solo é substituído pela água e nesse momento a quantidade de oxigênio torna-se baixa, podendo causar hipoxia ou chegar a uma anoxia total da raiz. Muitas raízes e sementes conseguem sobreviver por algum tempo a expensas apenas da respiração anaeróbica, porém esta não é suficiente para manter o crescimento, e, se o período de anoxia for muito longo, certamente muitos indivíduos morrerão.

Um exemplo de planta que pode crescer por um longo período com baixa disponibilidade de oxigênio é o arroz. Tubérculos, como os de batata, ou raízes tuberosas, como a da cenoura, não apresentam desenvolvimento satisfatório na ausência de respiração ou mesmo sob baixas taxas de respiração anaeróbica. Câmbios vascu-

¹Constante de Michaelis, que mede a afinidade de uma enzima por seu substrato — quanto menor a K_m , maior a afinidade.

lares de troncos, em geral, podem apresentar hipoxia, entretanto muitas árvores contêm lenticelas, que permitem trocas gasosas e a difusão de O_2 através de uma quantidade maior de espaços intercelulares.

Temperatura

A temperatura é um fator de grande influência na respiração, principalmente durante os estágios iniciais de desenvolvimento da planta. A parte aérea do vegetal, em qualquer estágio de desenvolvimento, num período de 24 horas, está sujeita a grandes e rápidas mudanças de temperatura, o que não acontece na mesma proporção com as raízes.

Na maioria dos tecidos, um aumento de $10^\circ C$, na faixa entre $5^\circ C$ e $25^\circ C$, dobra a taxa respiratória devido ao aumento da atividade enzimática. Abaixo de $5^\circ C$, há uma diminuição drástica da taxa respiratória, enquanto ao redor de $30^\circ C$ ocorre um aumento considerável, porém não tão rápido como na faixa de $5-25^\circ C$. Tal resultado é interpretado como decorrência do fato de o O_2 não se difundir com eficiência nesta temperatura. Temperaturas iguais ou superiores a $40^\circ C$ diminuem a eficiência da respiração devido ao comprometimento ou danos à maquinaria enzimática ou em consequência do rompimento das membranas de organelas.

Ferimentos e lesões

Qualquer dano mecânico ou ataque de microrganismos sofrido por uma planta gera um aumento da sua taxa respiratória. Este aumento pode ser devido à atividade do meristema de cicatrização ou à produção de substâncias de defesa da planta, uma vez que o tecido terá que produzir substâncias do metabolismo secundário relacionadas à defesa e também sintetizar macromoléculas relacionadas à construção dos novos tecidos durante a cicatrização. Os mecanismos de comunicação interna que levam à resposta dos tecidos à injúria envolvem uma reação inicial de hipersensibilidade, seguida pela produção de substâncias que irão alterar o metabolismo dos tecidos adjacentes (hormônios, por exemplo) e, conseqüentemente, aspectos quantitativos e qualitativos do processo respiratório.

RESPIRAÇÃO NA PLANTA INTEIRA

As alterações no metabolismo respiratório de uma planta podem ocorrer diariamente (sob condições de estresse de temperatura, umidade, luminosidade, ataque de patógenos, entre outros), ao longo de sua ontogenia (germinação, florescimento, frutificação) ou sazonalmente (mudanças de estações). Tais mudanças na taxa respiratória podem ser observadas na planta como um todo, mas principalmente naqueles órgãos mais expostos às variações, como no sistema radicular em condições de solo alagado, folhas atacadas por fungos ou frutos durante o climatério.

Pesquisas têm mostrado que as oscilações na taxa respiratória de um determinado órgão podem estar relacionadas com a quantidade, bem como com o tipo de substrato disponível para a respiração. O quociente respiratório (razão entre CO_2 liberado e

O_2 consumido — ver Quadro 7.2), pode ser usado como um bom indicador do tipo de substrato predominantemente utilizado. A variação da disponibilidade de substrato é uma das vias para se entender a maneira pela qual a respiração responde à demanda de energia metabólica (utilização de ATP). No entanto, ainda não se sabe ao certo se a oscilação da respiração de um dado órgão é causa ou consequência da oscilação paralela da disponibilidade de substratos presentes. Obviamente, existem muitas situações nas quais certos compostos produzidos como agentes de proteção contra organismos externos, por exemplo, são também inibidores ou desacopladores da cadeia de transporte de elétron e, portanto, afetam indiretamente a respiração do tecido.

Quando se pensa em controle da respiração, a idéia de demanda de energia, disponibilidade de substrato e taxa respiratória se sobrepõem. Sob baixos níveis de substrato (carboidratos e ácidos orgânicos) a atividade respiratória pode estar limitada por este déficit. Quando os níveis de substrato aumentam, a respiração pode exceder a demanda por energia metabólica. Nestas condições, a atividade da rota alternativa do metabolismo respiratório (cianeto-resistente) é aumentada. Como visto anteriormente, esta via alternativa permite a oxidação dos substratos e redução dos agentes redutores ($NAD[P]H$, $FADH_2$) sem, no entanto, produzir grandes quantidades de ATP.

Considerando a planta como um todo, a taxa de respiração depende de três processos principais que requerem energia: manutenção da biomassa, crescimento e transporte de íons (Fig. 7.7). Estima-se que o custo para a *respiração de manutenção* seja de 20 a 60% dos fotoassimilados produzidos por dia, sendo que a maior parte desta energia é direcionada para a renovação de proteínas e para a manutenção do gradiente de íons através da membrana. A *respiração de crescimento* está relacionada com os processos biossintéticos (produção de biomassa). Este tipo de respiração requer grande consumo de carboidratos para gerar energia (ATP e $NAD[P]H$) e esqueletos de carbono. Em tecidos heterotróficos a produção de energia é dependente exclusivamente da respiração, enquanto em tecidos fotossintetizantes tais compostos podem ser obtidos diretamente da fotossíntese. Alguns trabalhos demonstraram que a respiração de crescimento sofre um decréscimo significativo ao longo do ciclo de vida das plantas, enquanto a respiração de manutenção se mantém constante. Obviamente, estas alterações ocorrem devido à diminuição dos processos biossintéticos e com a contínua taxa de renovação de vários compostos. Finalmente, o *transporte de íons e moléculas* através da membrana pode ocorrer por canais ou carreadores, sendo que estes processos também requerem energia metabólica oriunda da respiração. Assim, a planta tem que lançar mão do sistema respiratório para absorver os macro- e micronutrientes fundamentais para a construção de seus corpos. Além disso, após a construção das moléculas fundamentais que compõem esses corpos (açúcares, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos) as células têm que se manter em constante “comunicação” através do transporte de açúcares (principalmente a sacarose) e hormônios vegetais. Tudo isso faz parte do sistema dos gastos energéticos referidos, na introdução, como do sistema de comunicação interna das plantas. Para compreender melhor o funcionamento destes

sistemas de comunicação, é importante conhecer os mecanismos de sinalização disparados pela luz ou por hormônios.

Além dos fatores limitantes para respiração já comentados anteriormente, existem outras situações de estresse (bióticas e abióticas) que também podem causar alterações nas taxas respiratórias e, conseqüentemente, afetar o crescimento da planta. Em geral, as condições de estresse levam a um aumento inicial na respiração devido a um aumento na demanda por energia (ou maior disponibilidade de substrato temporariamente) ou pela ativação da rota alternativa (cianeto-resistente), sendo que em longo prazo pode haver queda no processo respiratório em função de menores taxas de assimilação de carbono e no metabolismo em geral, associados a um crescimento mais lento dos organismos submetidos a tais condições (p. ex., estresse salino, déficit hídrico e ataque de patógenos, altas concentrações de CO₂).

Plantas expostas a baixas concentrações de oxigênio apresentam maior expressão do gene que codifica para a hemoglobina. Os níveis de mRNA de hemoglobina em tecido de aleurona de cevada são mais altos em baixo oxigênio e, além disso, o controle da expressão parece não estar relacionado diretamente ao oxigênio, mas aos níveis de ATP no tecido. Mais recentemente observou-se que hemoglobinas aparecem em tecidos em crescimento rápido. É possível que as taxas respiratórias relativamente baixas em tecidos vegetais em relação aos animais ocorram em condições em que o transporte de oxigênio não seja necessário, mas acima de um certo limiar. Por exemplo, sob condições de hipoxia (baixa disponibilidade de oxigênio) geradas por alagamento, as hemoglobinas seriam responsáveis pelo seu transporte. Uma outra hipótese é que a hemoglobina funcionaria com um mecanismo sensor de oxigênio nos tecidos.

A ECOFISIOLOGIA E A RESPIRAÇÃO

A ecofisiologia pode ser definida como uma ciência experimental que visa estudar e descrever os mecanismos fisiológicos que determinam o que se observa na ecologia. Por isso, compreender as conseqüências das alterações, controle e aspectos fisiológicos da respiração em plantas têm grande relevância para a ecofisiologia vegetal. Para compreender melhor as conseqüências ecológicas do que foi exposto até aqui, é necessário refletir sobre como o processo respiratório ocorre na planta inteira considerando ainda sua inserção no ecossistema.

Como mencionado anteriormente, um dos fatores que influenciam a respiração na planta inteira é a idade. Plantas jovens apresentam taxa respiratória elevada em relação a plantas mais velhas. Em plantas jovens, a respiração relacionada aos tecidos em desenvolvimento é de três a dez vezes maior que a taxa respiratória relacionada à manutenção. Com isso, é possível inferir que as taxas respiratórias do conjunto de plantas em um dado bioma (floresta, cerrado etc.) em regeneração apresentem uma taxa respiratória mais alta como um todo. Para que o saldo seja positivo e o balanço de massas do sistema seja favorável durante o processo de sucessão ecológica, as taxas respiratórias mais altas devem ser compensadas por taxas fotossintéticas ainda mais altas. Em experimento recente, os meteorologistas calcularam que no

cerrado, por exemplo, o conjunto de plantas apresentou, durante um ano, um saldo de apenas 0,1 tonelada de carbono fixado por hectare em relação às estimativas de respiração. Isto explica o lento crescimento observado, em conjunto, das plantas no bioma de cerrado.

No contexto ecofisiológico, é importante contrastar a importância da respiração com a da fotossíntese pelas plantas. Um fator chave para qualquer planta é a manutenção de sua taxa de crescimento. A idéia de que esta taxa esteja diretamente relacionada à taxa de fotossíntese é tentadora, mas há evidências de que isto não ocorre sempre e em todos os casos. É certo que parte do carbono assimilado é transformado em carboidratos e irá servir como substrato para a respiração, mas isto varia, por exemplo, com a capacidade máxima de crescimento de cada espécie. Plantas de crescimento rápido assimilam mais do que respiram, enquanto as de crescimento lento não.

Outro aspecto importante que deve ser levado em conta é o de que as variáveis ambientais que alteram as taxas respiratórias agem de forma distinta sobre a fotossíntese, indicando que cada um dos processos deve ter regulação própria, apesar de preservarem, obviamente, algumas ligações.

É interessante observar ainda que a situação é diferente em cada tipo de ambiente e que os fatores limitantes ou estimulatórios do processo respiratório em diferentes partes de cada planta são distintos. Apesar de toda essa complexidade, é possível observar padrões na grande maioria das espécies. Tal constatação sugere que o processo respiratório em plantas é evolutivamente conservado e confirma que a função principal do processo respiratório é mesmo a de capacitar as plantas a obter energia, seja para a produção de ATP ou para a produção de calor.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Buchanan BB, Gruissem W e Jones RL. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiology and Molecular Biology. Maryland, USA, 1367p.
- Buckeridge MS, Aida MPM, Santos HP e Tiné MA. 2004. Acúmulo de Reservas. In: *Germinação. Do Básico ao Aplicado*. Alfredo Gui Ferreira & Fabian Borgheti (Eds.). Artmed, Porto Alegre, pp. 31-50.
- Buckeridge MS, Santos HP, Tiné MA & Aida MPM. 2004. Mobilização de Reservas. In: *Germinação. Do Básico ao Aplicado*. Alfredo Gui Ferreira & Fabian Borgheti (Eds.). Artmed, Porto Alegre, pp. 163-185.
- Dordas C, Rivoal J e Hill RD. Plant haemoglobins, nitric oxide and hypoxia stress. *Annals of Botany*, 2003; 91:173-178.
- Lambers H, Chapin III FS e Pons TL. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer Verlag. New York, USA, 540p.
- Nelson DL e Cox MM. 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, USA, 1157p.
- Rocha HP, Freitas H, Rosolem R, Juárez RIN, Tannus RN, Ligo MA, Cabral OMR e Dias MAFS. (2002) Measurements of CO₂ exchange over a woodland savanna (Cerrado *Sensu Strictu*) in Southern Brazil. *Biota Neotropica*, V.2 (www.biotaneotropica.org.br).
- Salisbury FB e Ross CW. 1992. *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company, Belmont, USA, 682p.
- Taiz L e Zeiger E. 1998. *Plant Physiology*, Sinauer Associates Inc, Publisher, Sunderland, Massachusetts, USA, 791p.

Parede Celular

Marcos Silveira Buckeridge, Aline Andréia Cavalari e Giovanna Bezerra da Silva

INTRODUÇÃO

Quando Pedro Álvares Cabral chegou ao Brasil em 1500, uma das primeiras providências foi mandar escrever uma carta para o Reino de Portugal, avisando o rei sobre o que tinha encontrado. Na carta, escrita em papel, Pero Vaz de Caminha descreve a nova terra, salientando, entre outras coisas, o valor de suas plantas. Mas algo que nem Cabral ou Caminha podiam saber na época é que tudo isto só foi possível por causa da parede celular das plantas. As famosas caravelas que os trouxeram haviam sido construídas em madeira e suas velas eram feitas de pano, cuja composição principal são as paredes celulares das fibras e tecidos vasculares de plantas. As roupas dos tripulantes eram todas feitas de celulose, a comida de origem vegetal trazida a bordo foi a fonte de fibras que fez os intestinos das tripulações funcionarem durante a viagem. E, finalmente, a carta de Caminha foi escrita sobre celulose.

O exemplo da descoberta do Brasil denota o fato de que é muito difícil escapar do envolvimento da parede celular dos vegetais em qualquer evento, passado ou moderno. Isto ocorre porque todas as células vegetais são envolvidas por uma matriz de polímeros chamada de parede celular e ao usar qualquer produto de origem vegetal, direta ou indiretamente, usam-se as propriedades da parede celular.

Da mesma forma que na história e no dia-a-dia, na fisiologia vegetal também se pode afirmar que a parede está relacionada com a grande maioria dos eventos. Há alguns poucos processos fisiológicos em que a parede é determinante direto, como o transporte de água a longas distâncias nas plantas através do xilema e a abertura dos estômatos, mas em qualquer fenômeno fisiológico nos vegetais que se vislumbre, a parede terá uma participação, seja na germinação, passando pelo crescimento, seja no desenvolvimento de folhas, flores e frutos.

O fato de que há sempre uma participação da parede celular em qualquer evento fisiológico faz com que, ao mesmo tempo em que se possam distinguir algumas funções fisiológicas da parede em geral, a importância da parede na maioria dos fenômenos fisiológicos aparece de forma coadjuvante. Nesse contexto, podemos separar os aspectos funcionais da parede seguindo os conceitos de função e papel biológico segundo proposto por Ernst Mayr em seu último livro: *Biologia, Ciência Única*. Um exemplo serve bem para ilustrar o conceito de Mayr: *enquanto a função das patas de um guepardo seria a locomoção, um dos papéis biológicos das patas seria aumentar a eficiência do ataque à presa*. No caso da parede, usaremos este tipo de divisão entre função e papel biológico, mas para que se possa acessar estes conceitos em maior profundidade será necessário compreender, primeiro, de que é constituída e o que é a parede celular das plantas.

Neste capítulo, serão primeiramente mostradas as características químicas e físicas da parede, que a definem estruturalmente. Posteriormente, serão discutidos os modelos que tentam explicar como os polímeros se arranjam, gerando as propriedades emergentes que formam o que hoje chamamos de arquitetura da parede celular vegetal. A compreensão da estrutura e propriedades dos componentes e de como estes são arranjados no complexo de polímeros que forma a parede permite inferir suas funções principais na planta, ajudando a explicar os processos de crescimento e desenvolvimento, que constituem a essência da fisiologia vegetal. Como a parede está envolvida com todos os processos fisiológicos, com maior ou menor intensidade, não é possível mencionar e discutir neste capítulo todos os papéis biológicos que ela desempenha nas plantas. Assim, não é possível permear todos os capítulos deste livro, colocando a parede nos diferentes contextos. Nesse sentido, os leitores são convidados a usarem os conhecimentos adquiridos no presente capítulo e, ao lerem os outros, perguntarem a si mesmos como

a parede pode estar envolvida nos diferentes processos fisiológicos abordados.

Por último, há uma breve exposição sobre algumas das principais aplicações da parede celular em biotecnologia vegetal, bem como o seu papel na questão ambiental atual do seqüestro de carbono frente às mudanças climáticas globais em curso no planeta.

A PAREDE CELULAR

Você já pensou por que uma planta pára em pé? Árvores atingiram tamanhos e alturas (há sequóias no hemisfério norte com quase 100 metros de altura) que mesmo depois de milhões de anos de evolução animais jamais conseguiram atingir.

As plantas possuem estruturas que podem ser consideradas análogas aos ossos, isso porque, em tecidos vegetais, cada célula é envolvida por uma estrutura chamada parede celular (Fig. 8.1). Ela é um complexo de polímeros (longas cadeias moleculares) que ficam do lado de fora das células, o chamado *apoplasto*.

Os fisiologistas vegetais chamam de *apoplasto* o espaço existente entre as células vegetais. Esta é uma característica marcante das plantas, pois o *apoplasto* forma um espaço contínuo que liga o exterior da planta a qualquer célula no tecido vegetal. O *apoplasto* permeia toda a planta e só é interrompido por uma estrutura chamada “estria de Caspary” que fica em uma camada ao redor das raízes chamada endoderme (Fig. 8.1C). Isto quer dizer que se uma molécula de água ganhar o espaço *apoplástico* da raiz, ela terá obrigatoriamente que passar pelo *simplasto* (por dentro do citoplasma) no ponto em que se encontram as estrias de Caspary, mas poderá então ganhar o *apoplasto* novamente e sair pela folha sem precisar passar pelo interior de qualquer célula. Obviamente isto é raro, pois a água é transportada eficientemente pelo interior do xilema, mas a idéia é ilustrar que todas as células das plantas são cimentadas pelas paredes, que têm que suportar enormes forças de tensão (forçando a separação entre as células) e coesão (mantendo as células justapostas).

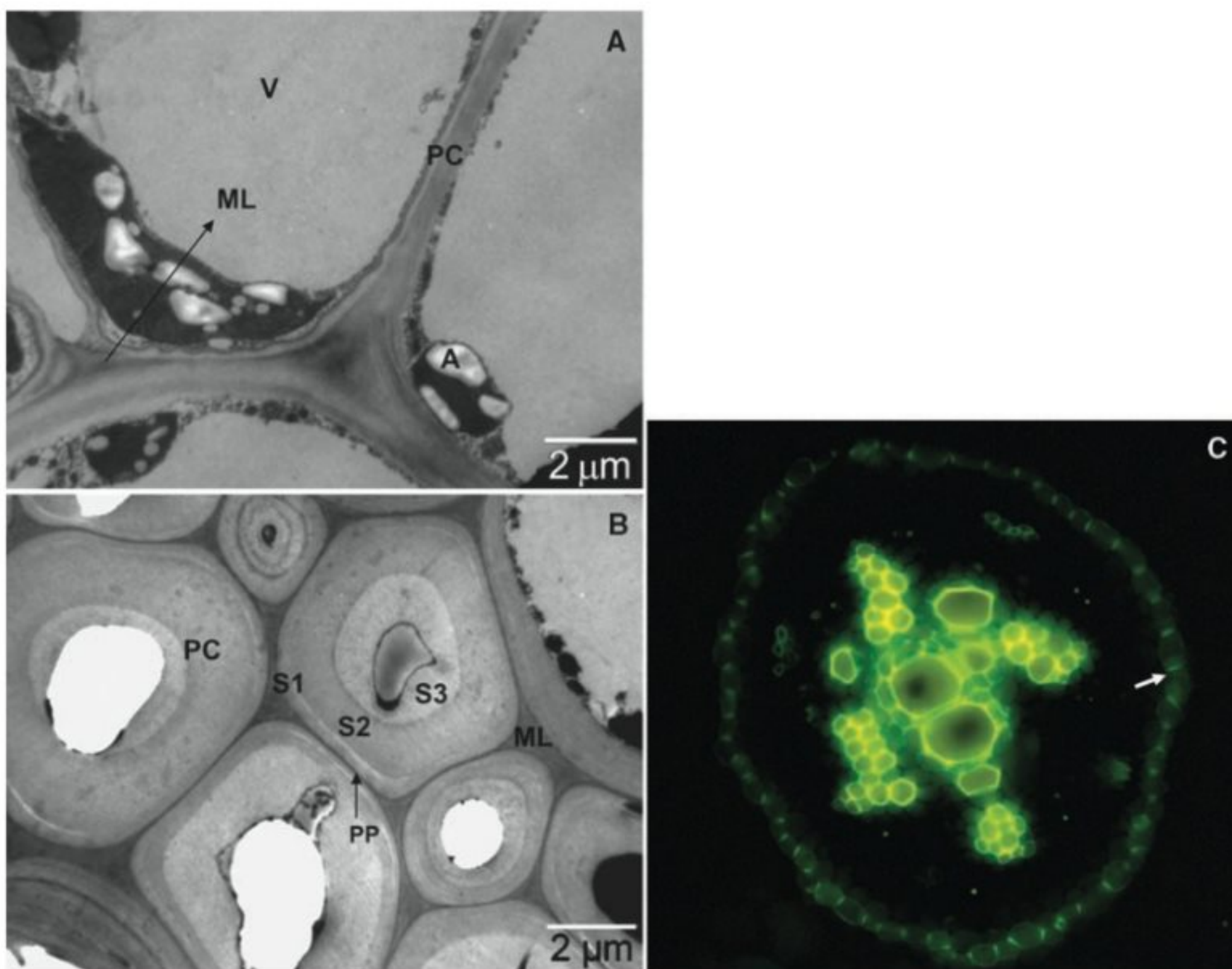


FIGURA 8.1

Fotomicrografia de células de folhas de *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) mostrando detalhes da parede celular primária (uma célula paliçada) (A) e da parede celular secundária (fibras do sistema vascular) (B). PC = parede celular, ML = lamela média, V = vacúolo, A = grânulo de amido, S1, S2, S3 = camadas da parede secundária das fibras com deposição de celulose em diferentes sentidos. Estas células têm parede primária (PP) que constitui uma fina camada de tom cinza mais escuro (ponta da seta). Fotos de Marcelo Machado e Marcos Buckeridge, 2007. (C) Secção transversal de uma raiz de feijão vista em microscopia de fluorescência. Os vasos do xilema são vistos ao centro e o brilho está relacionado à presença de lignina. O anel ao redor do feixe vascular é a endoderme e os pontos claros (seta) são as estrias de Caspary (foto da disciplina Forma e Função em Plantas — IB-USP).

O apoplasto poderia ser definido com o espaço vazio, ou cheio de água e compostos nela solúveis, em que estão diversos compostos que a planta sintetiza e transporta, como açúcares, aminoácidos e compostos do metabolismo secundário. Estes compostos são denominados coletivamente como a *matriz extracelular vegetal* (MEV). A parede celular faz parte da MEV e, justaposta à parede, está a lamela média (Fig. 8.1), que “cimenta” as células entre si. A lamela média é formada de pectinas e é permeável a vários compostos de baixo peso molecular.

A QUÍMICA E A BIOQUÍMICA DA PAREDE CELULAR

Pode-se até compreender razoavelmente as propriedades das paredes celulares sem conhecer mais profundamente as suas propriedades físicas, mas é impossível sequer começar a compreendê-las de forma adequada sem conhecer primeiro a sua composição química.

Em média, 90% da parede celular é composta por açúcares. Se considerarmos todas as possibilidades de ligações entre os açúcares que ocorrem em paredes celulares de plantas, o número de combinações possíveis passa de 1,5 bilhão. No entanto, destas, apenas algumas dezenas ocorrem.

Considerando que a maior parte da parede é açúcar, é fundamental entender um pouco mais sobre eles, e na Tabela 8.1 são dadas algumas informações importantes sobre a química dos carboidratos.

A parede celular vegetal é normalmente dividida em três domínios, sendo um domínio microfibrilar envolvido por outro domínio denominado matriz. Pode-se fazer uma analogia com o concreto: o domínio microfibrilar seria como o ferro e o da matriz seriam a areia e as pedras. O domínio microfibrilar é altamente cristalino e homogêneo, constituído basicamente por celulose e hemiceluloses, e confere resistência e rigidez à parede celular. A matriz onde o domínio celulose–hemicelulose se insere compreende as substâncias pécticas. A parede é um compartimento dinâmico das células vegetais em que alterações ocorrem a todo momento. Assim, fazem parte da parede várias proteínas (entre elas proteínas estruturais e enzimas) que operam sobre os polímeros de açúcares. Este é chamado de domínio protéico.

Celulose

A celulose é considerada um glucano, ou seja, um polissacarídeo formado por unidades de glicose. A celulose possui longas cadeias lineares de glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo beta-(1,4). Não se sabe ao certo qual o tamanho máximo que uma molécula de celulose pode atingir, mas é possível que uma única molécula possa dar uma volta completa, ou mesmo algumas, ao longo do diâmetro da célula.

As moléculas de celulose são lineares, ou seja, sem ramificações, e cada molécula de glicose fica disposta em uma rotação de 180° em relação à molécula adjacente (Fig. 8.2A). As moléculas de celulose unem-se formando um complexo cristalino denomi-

nado microfibrila. Isto ocorre porque uma molécula de celulose é disposta em relação à molécula adjacente de forma antiparalela (Figs. 8.2A e 8.3). A disposição das hidroxilas das moléculas de glicose, quando arranjadas deste modo, formam um grande número de ligações de pontes de hidrogênio (Fig. 8.2A). Estas pontes competem com a água de hidratação das hidroxilas e com isto, durante a formação da microfibrila, apenas um mínimo de água permanece no cristal. O resultado é uma estrutura cristalina extremamente compactada e desidratada. Isto gera uma consequência extremamente interessante para as plantas, pois devido ao enorme número de ligações de pontes de hidrogênio entre as glicoses das moléculas de celulose, as microfibrilas resistem a grandes forças de tensão. Além disso, o fato de serem desidratadas dificulta o ataque de enzimas à celulose, a não ser em casos muito especiais. Isto ocorre porque, para que se quebre uma ligação glicosídica, um processo chamado de hidrólise, é necessário que a água esteja presente. Outro ponto importante é que as ligações glicosídicas do tipo beta, existentes entre as glicoses na celulose, necessitam de mais energia do que as ligações alfa do amido, por exemplo, para serem quebradas. Há, portanto, uma severa limitação de acesso à celulose, tanto por hidratação como enzimaticamente. Todas estas características notáveis ilustram por que a celulose, dentre todas as outras possibilidades de formação de cristais de polímeros de açúcares, foi selecionada durante a evolução e ocorre desde algas verdes até as plantas mais derivadas do planeta.

As microfibrilas de celulose são sintetizadas em complexos protéicos denominados rosetas, os quais estão imersos na membrana plasmática. A celulose é o único polissacarídeo de parede sintetizado na membrana plasmática, sendo que os demais são feitos no complexo de Golgi, ainda dentro do citoplasma da célula, os quais são secretados para fora.

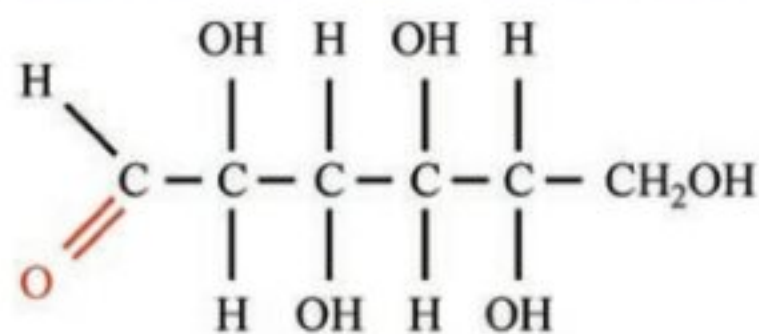
Na membrana citoplasmática, a sintase de sacarose forma um complexo com a sintase de celulose e atua como um canal metabólico para transferir glicose da sacarose via uridina-difosfato-glucose (UDPG), para o crescimento da cadeia do glucano. A celulose sofre pouca degradação durante a vida da planta, sendo degradada geralmente em casos especiais como na formação de aerênquima durante o alagamento. Na maioria dos órgãos, tais como folhas, ramos e raízes, a maior parte da celulose persiste mesmo após a senescência.

Hemiceluloses

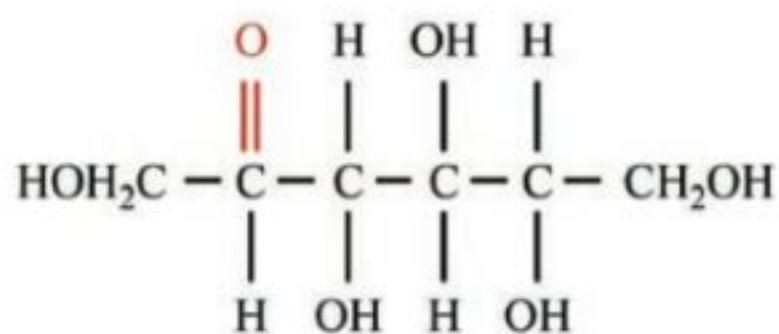
Uma das principais hemiceluloses encontradas na natureza é o **xiloglucano (XG)** (Fig. 8.3B). Ele consiste em uma cadeia de glicose unidas entre si por ligações do tipo beta-(1,4), idênticas à celulose. Porém, o XG apresenta ramificações em pontos específicos com xilose alfa-(1,6), a qual pode ter ramificações com galactose ligada beta-(1,2). Algumas unidades de galactose podem ter ainda fucose ramificando a galactose através de ligações glicosídicas do tipo alfa-(1,6). Sabe-se desde 1960 que as ramificações com xilose são regulares, sendo que na maioria dos XG uma a cada quatro ou cinco glicose não apresenta ramificação, sendo estes os únicos pontos de acesso à cadeia principal

TABELA 8.1

Poliidroxialdeído: note que no carbono 1 (último à esquerda) há um aldeído



Poliidroxicetona: note que nesse caso há uma cetona (no carbono 2, segundo da esquerda para a direita)



Hexoses: são monossacarídeos que contêm 6 carbonos no total e formam um anel piranósico (hexâmero). Exemplos são a glucose, manose e galactose. Esta última também pode formar anéis furanósicos, como a frutose



Pentoses: são monossacarídeos com 5 carbonos. Exemplos são a ribose, arabinose e xilose. A frutose também forma um anel de cinco carbonos, mas contém 6 carbonos no total e é portanto uma hexose (veja acima). Tal anel é formado porque a frutose é uma cetose

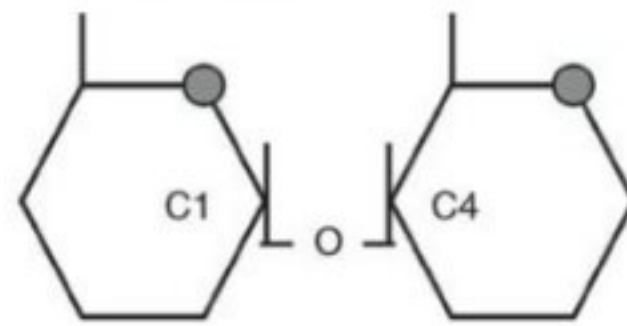
Açúcares ou carboidratos são definidos como poliidroxialdeídos e seus derivados. Eles possuem vários grupamentos hidroxila e também um grupamento aldeído ou cetona em suas moléculas. Os que possuem grupamentos aldeído são chamados aldoses e os do tipo cetona são as cetoses. Os poliidroxialdeídos e as poliidroxicetonas são as unidades básicas dos carboidratos. Substâncias que possuam as características acima são denominadas genericamente monossacarídeos.

Os monossacarídeos são classificados conforme o número de átomos de carbono, sendo o gliceraldeído e a diidroxicetona os menores monossacarídeos conhecidos, uma vez que possuem apenas três átomos de carbono. O número de átomos de carbono varia entre três e oito e os nomes dados a esses monossacarídeos são designados por prefixos conforme este número, ou seja, *tri*, *tetra*, *penta* (ver estrutura ao lado), *hexa* (ver estrutura ao lado), *hepta* e *octa*, acrescidos do sufixo *ose*. Assim, pode-se classificar a glicose e a frutose como hexoses, pois ambas possuem seis átomos de carbono em suas moléculas. Além de se distinguirem pela presença de grupamentos aldeído ou cetona e pelo número de átomos de carbono, os açúcares diferem quanto à posição das hidroxilas nas moléculas. Mesmo a glicose e a manose (que são aldoses e hexoses) diferem entre si quanto à posição de hidroxila do carbono 2. Esta diferença dá a cada molécula propriedades físicas e químicas diversas, que fazem com que as denominemos por nomes específicos. Nas plantas, os monossacarídeos mais comuns entre as pentoses são a desoxirribose e a ribose (componentes do DNA e RNA, respectivamente), a arabinose e a xilose (componentes da parede celular). Entre as hexoses, destacam-se a glicose, a manose, a galactose (todas aldoses) e a frutose (uma cetose).

Normalmente ocorre uma reação interna nas moléculas dos monossacarídeos, ou seja, o grupamento aldeído (no carbono 1) ou o grupamento cetona (no carbono 2) reage com um grupamento hidroxila de própria molécula (em geral pertencente ao carbono 5) e forma um anel. Devido à proximidade do átomo de oxigênio, o carbono 1 se torna mais reativo do que os demais, podendo reagir com as hidroxilas de outras moléculas de monossacarídeos. Quando duas moléculas de monossacarídeos se unem formando uma molécula maior, esta é denominada dissacarídeo, e a ligação estabelecida entre as duas é chamada de ligação glicosídica. Os oligossacarídeos são açúcares compostos de duas a dez moléculas monossacarídicas unidas por ligações glicosídicas. Se o número de monossacarídeos é maior que dez, o carboidrato é

TABELA 8.1 CONTINUAÇÃO

Ligação glicosídica: o carbono 1 (C1) de um dos monossacarídeos se liga ao carbono 4 (C4) de um outro monossacarídeo. A ligação é feita através da reação entre dois carbonos de forma que uma molécula de água entra para cada reação realizada e uma molécula de água sai quando a reação é quebrada. O nome dado a esta reação é *hidrólise*, que significa *quebra pela água*



A estrutura acima é uma celobiose. Este dissacarídeo consiste em duas moléculas de glicose ligadas entre si por ligação glicosídica beta-(1,4) e constitui a base da molécula de celulose

denominado polissacarídeo. A ligação glicosídica é formada sempre através de carbono 1 de uma das moléculas do monossacarídeo com qualquer átomo de carbono de outra molécula, exceto o carbono 5 (nas hexoses), pois este está impedido de reagir por fazer parte da ligação que forma o anel de hexose. No caso de duas moléculas de glicose nove tipos diferentes de ligações glicosídicas são possíveis.

O número de estruturas possíveis no caso dos oligossacarídeos é muito maior. Este número aumenta mais ainda, pois podem existir ligações entre diferentes monossacarídeos. Por outro lado, esta diversidade não é tão grande na natureza quanto poderia ser, pois a maioria das estruturas possíveis não ocorre. No caso dos polissacarídeos, a maioria das moléculas conhecidas possui unidades monossacarídicas respectivas de um único tipo ou de dois a três tipos diferentes.

Adaptado de Dietrich et al. 1988.

pelas celulasas. Além disso, duas das xiloses ainda podem ser ramificadas com galactose. Em alguns casos, uma das galactoses pode ser ramificada com fucose. Acredita-se que estas ramificações com fucose induzam a mudanças na conformação da cadeia principal do XG, afetando diretamente sua capacidade de interação com a celulose.

Estas ramificações da cadeia principal celulósica dos XG alteram o ângulo de ligação entre as glicoses de 180° para cerca de 52°. Esta alteração faz com que a força de interação entre as

cadeias principais de moléculas de xiloglucano, que são idênticas à celulose, seja bem menor, de forma que os XG não formam microfibrilas. Ainda assim, a proximidade estrutural entre os XG e a celulose faz com que o primeiro seja capaz de interagir com a segunda de maneira eficiente, mas de forma reversível.

A regularidade das ramificações dos XG está relacionada com a existência de regiões moleculares com diferentes graus de interação entre si e com a celulose, o que ilustra o fato de que, como o DNA e as proteínas, os polissacarídeos também podem apre-

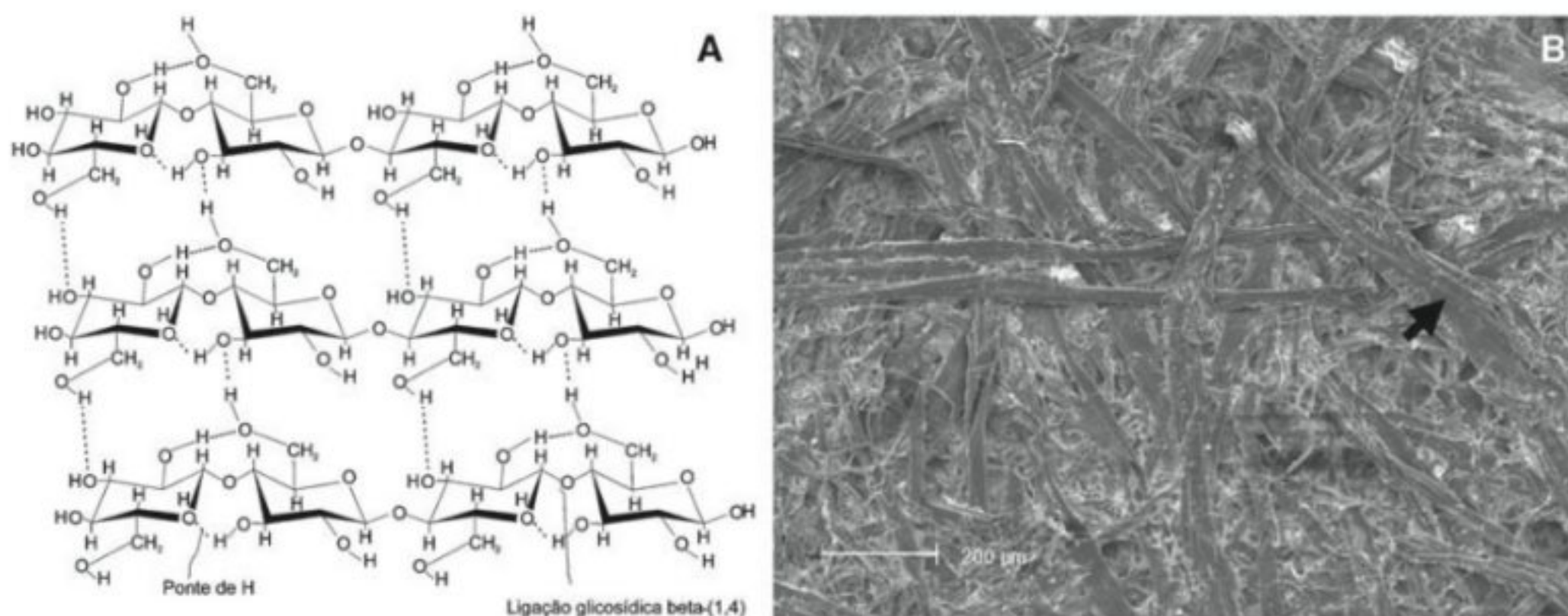


FIGURA 8.2

Estrutura e aparência da celulose. (A) Estrutura da celulose mostrando três cadeias antiparalelas com pontes de hidrogênio fortalecendo as ligações entre as moléculas e mostrando também as ligações glicosídicas beta-(1,4) entre as moléculas de glicose. (B) Micrografia de varredura da superfície de uma folha de papel mostrando fibras (seta) compostas de 99% de celulose. Mesmo depois do processamento, ainda se encontra até 1% de xilose pertencente ao xilano, uma hemicelulose. Foto de Cesar Gustavo Lisboa e Marcos Buckeridge, 2005.

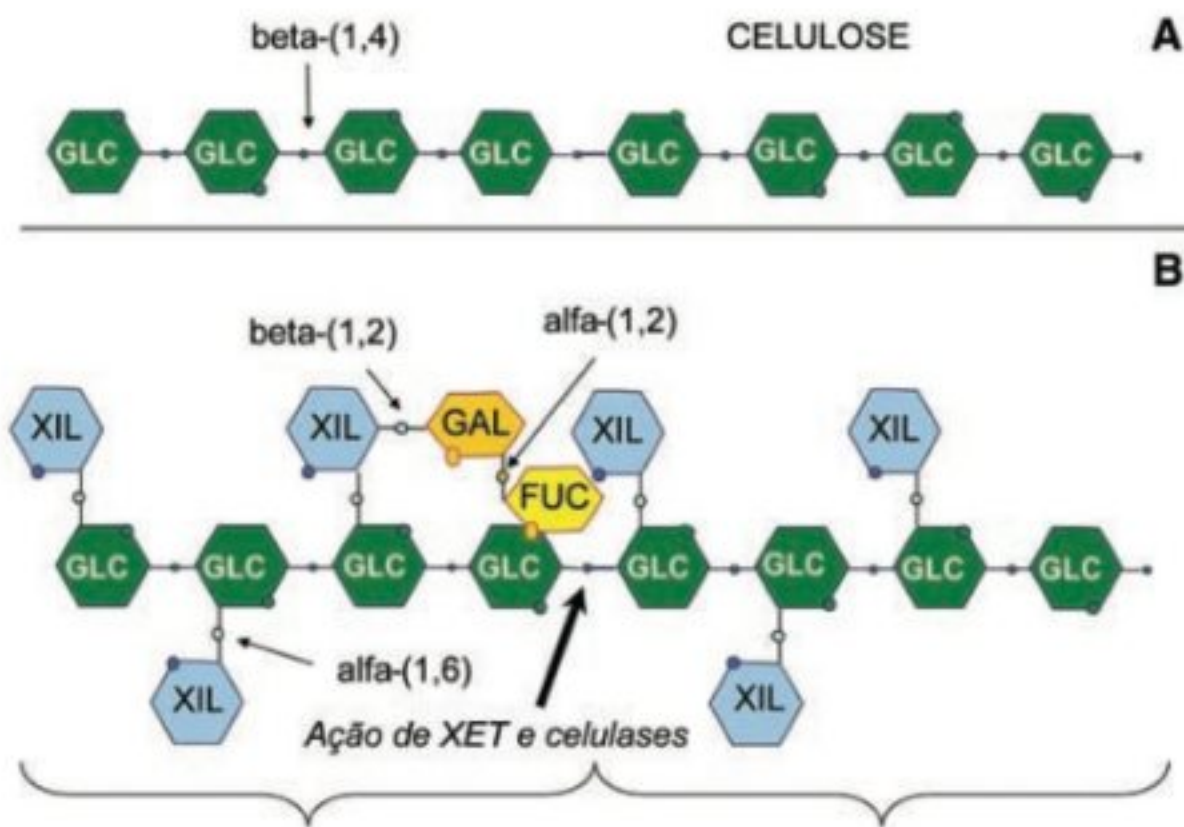


FIGURA 8.3

Estruturas químicas da celulose (A) e do xiloglucano (B). Note que a cadeia principal do xiloglucano é idêntica à da celulose e que há blocos repetitivos (colchetes) com quatro glicoses, três xiloses e galactose e fucose em proporções variáveis. XET e celulases só conseguem quebrar as ligações beta-(1,4) da cadeia principal no ponto indicado com a seta grossa. O acesso às demais ligações da cadeia principal só ocorre quando outras enzimas (hidrolases) retiram as ramificações. As ramificações com galactose e fucose também dificultam o acesso à cadeia principal, e pontos sem estas ramificações são atacados mais eficientemente pela xiloglucano endotransglicosilase (XET) ou celulases. GLC = glicose, XIL = xilose, GAL = galactose e FUC = fucose.

sentar domínios funcionais em suas moléculas (Tiné *et al.*, 2006) (Fig. 8.3B).

Dependendo das ramificações e do tamanho da molécula de xiloglucano (que é muito menor do que a celulose), a interação será mais forte ou mais fraca. Quanto mais ramificado, principalmente com galactose e fucose, mais fraca será a interação com as microfibrilas, sendo que o mesmo acontece se a molécula de XG for grande.

Estas características denotam a principal função atribuída ao XG em nível celular, que é a orientação das microfibrilas de celulose na parede. Acredita-se que as microfibrilas de celulose em dicotiledôneas sejam inteiramente cobertas por uma camada de xiloglucano. É importante notar que nas regiões menos ramificadas as moléculas de XG interagem entre si. Como as ramificações podem variar em uma mesma molécula, quanto mais ramificado for um segmento de xiloglucano, mais solúvel será ele na água presente no apoplasto e menos interativo com a celulose. Por outro lado, um segmento da mesma molécula que tenha baixa ramificação com fucose e galactose será fortemente interativo com celulose e outras moléculas de XG pouco ramificadas. Desta forma, acredita-se que o XG tenha a capacidade de formar pontes moleculares entre as microfibrilas de celulose, aumentando ainda mais a resistência da parede como um todo às forças de tensão provocadas pelo aumento no turgor celular durante o crescimento.

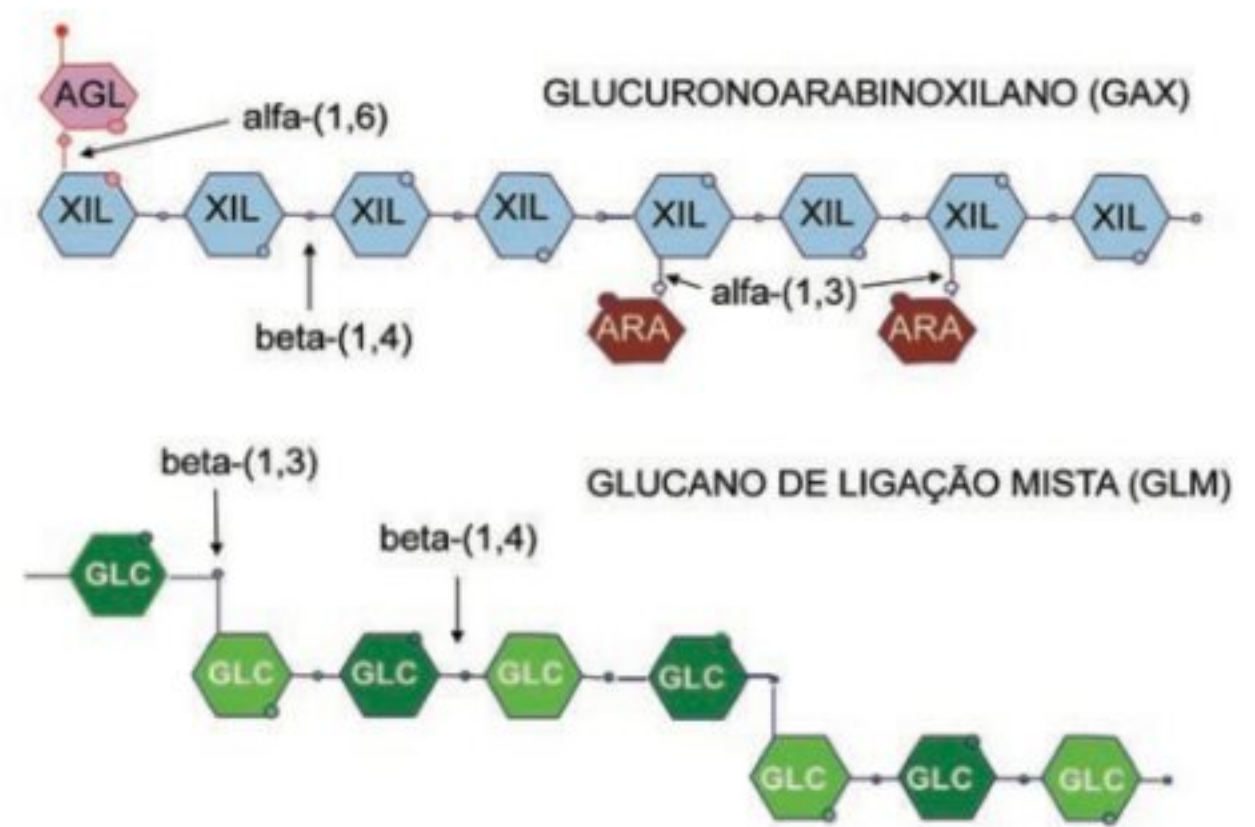


FIGURA 8.4

Hemiceluloses típicas de monocotiledôneas. XIL = xilose, AGL = ácido glucurônico, ARA = arabinose, GLC = glicose.

Devido à importância das propriedades mecânicas do complexo celulose-xiloglucano para o equilíbrio de forças nas células vegetais, as plantas raramente produzem enzimas capazes de digerir a celulose, ou seja, celulases. Somente em casos extremos, como a formação de aerênquima durante o alagamento ou durante o amadurecimento de frutos e a mobilização de reservas em sementes, é que celulases agem sobre as microfibrilas, sendo que, antes de atingi-las, é necessário retirar ou degradar o XG.

Dois outros polímeros hemicelulósicos parecem exercer papéis análogos ao do xiloglucano, os **glucuronoarabinoxilanos (GAX)** e os **glucomananos (GMN)**.

Os GAX são polímeros ácidos e possuem uma cadeia de xiloses unidas por ligações do tipo beta-(1,4) (Fig. 8.4). A seleção natural, portanto, levou ao aparecimento, em alguns grupos de plantas, de um polímero que tem uma cadeia principal similar à celulose, porém com algumas diferenças. Como os XG, os GAX são ramificados, mas neste caso com arabinose e com ácido galacturônico. Os GAX são característicos de alguns grupos de monocotiledôneas e ocorrem também como a principal hemicelulose na maioria das paredes secundárias (fibras dos tecidos vasculares).

Os glucomananos (GMN) são hemiceluloses que apresentam uma cadeia principal de manoses e glicoses unidas por ligações glicosídicas do tipo beta-(1,4). Este tipo de ligação, como no caso da celulose, dos XG e dos GAX, produz uma cadeia linear que quando em interação numa disposição antiparalela forma compostos muito resistentes. Em alguns casos, a hemicelulose pode ser formada apenas por unidades de manose, chamando-se **manano (MN)**. Os mananos formam uma classe de polímeros que compreendem os mananos puros (MP), os glucomananos (GMN) e os galactomananos (GM) (Fig. 8.5). Tecidos vegetais com células contendo paredes repletas de MP apresentam grande resistência mecânica. Um dos exemplos é o da semente da palmeira *Phoenix*, a qual foi usada durante muito tempo para a confecção de botões de roupas. No caso do café, grande parte da massa sólida insolúvel que chamamos de borra do café é composta

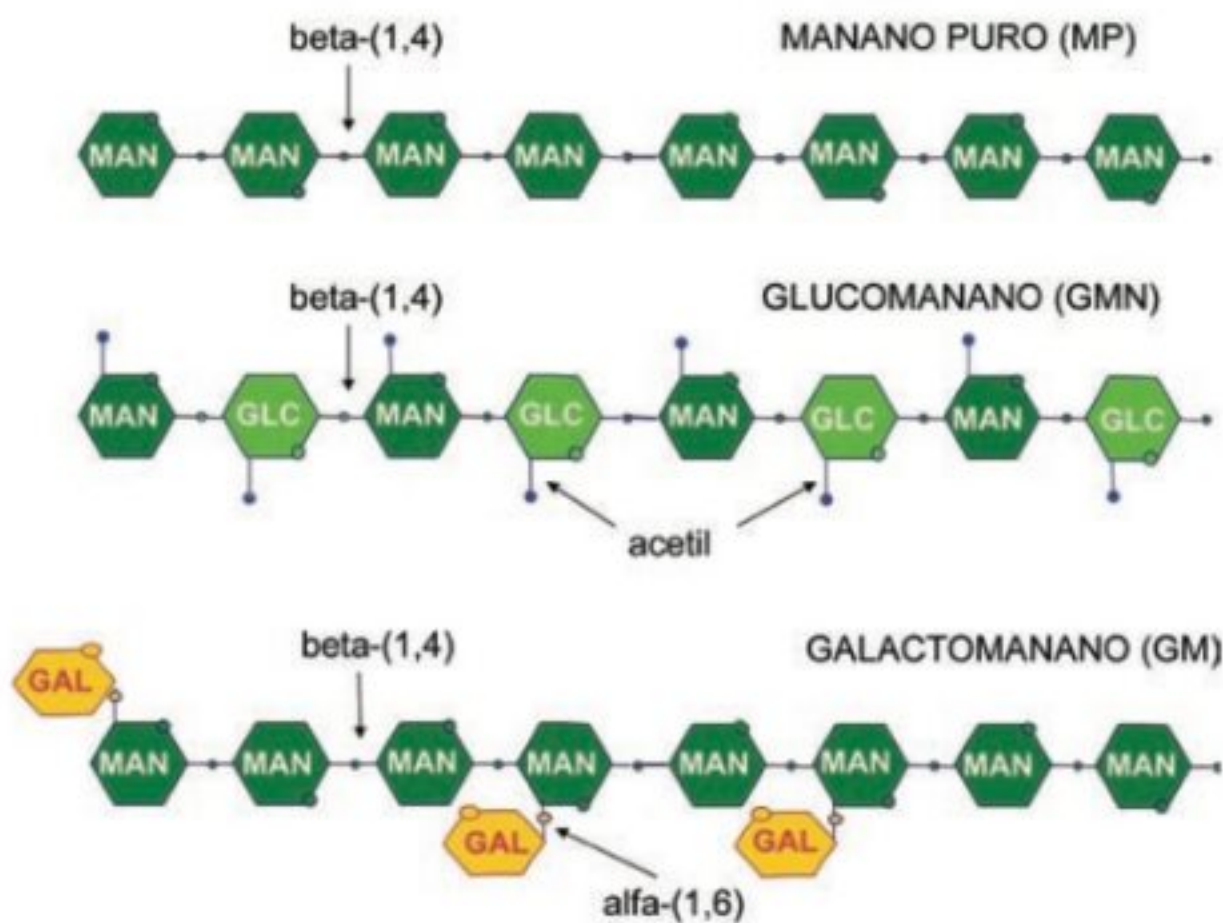


FIGURA 8.5

Hemiceluloses do grupo dos mananos. MAN = manose, GAL = galactose, GLC = glicose.

de MP e de celulose, que são insolúveis. A parte solúvel compreende principalmente pectinas (discutidas adiante) e um pouco de GM, o qual apresenta ramificações com galactose. Uma variação da estrutura dos MN são os galactoglucomananos (GGM), que apresentam alternância de glicoses e manoses na cadeia principal. Estes polímeros podem tornar-se mais solúveis se apresentarem ramificações com radicais acetil.

De forma análoga ao XG e o GAX, quando ramificado com radicais acetil ou com galactose, a solubilidade em água dos GGM ou dos galactomananos (GM) aumenta e a força de interação com celulose diminui. Os MN e suas variações em GGM e os GM também interagem com a celulose de forma eficiente e dependente das ramificações. Não há estudos acurados, mas acredita-se que GAX, GMN e mananos em geral tenham função similar à dos XG, organizando as microfibrilas de celulose na parede celular.

Os XG, GAX e MN podem ocorrer ao mesmo tempo em um dado tecido, mas geralmente um deles é dominante. De maneira geral, suas funções parecem estar relacionadas ao equilíbrio das forças de tensão das paredes celulares e ao controle do crescimento celular. Outra função importante dos XG e dos GM é servirem como reserva de carbono em endospermas ou cotilédones de sementes. A vantagem em ter tais compostos como reserva de carbono é que o número de espécies capazes de produzir enzimas que ataquem estes polímeros é limitado e, com isto, há uma proteção razoável contra herbivoria e o ataque de microrganismos.

Pectinas

As pectinas são polissacarídeos ácidos que se acredita não estarem covalentemente ligadas à celulose ou às hemiceluloses (ver adiante o item sobre os modelos de parede). A cadeia central das pectinas é formada por ácido galacturônico (uma versão ácida da galactose) unidos por ligações do tipo alfa-(1,4). Esta cadeia

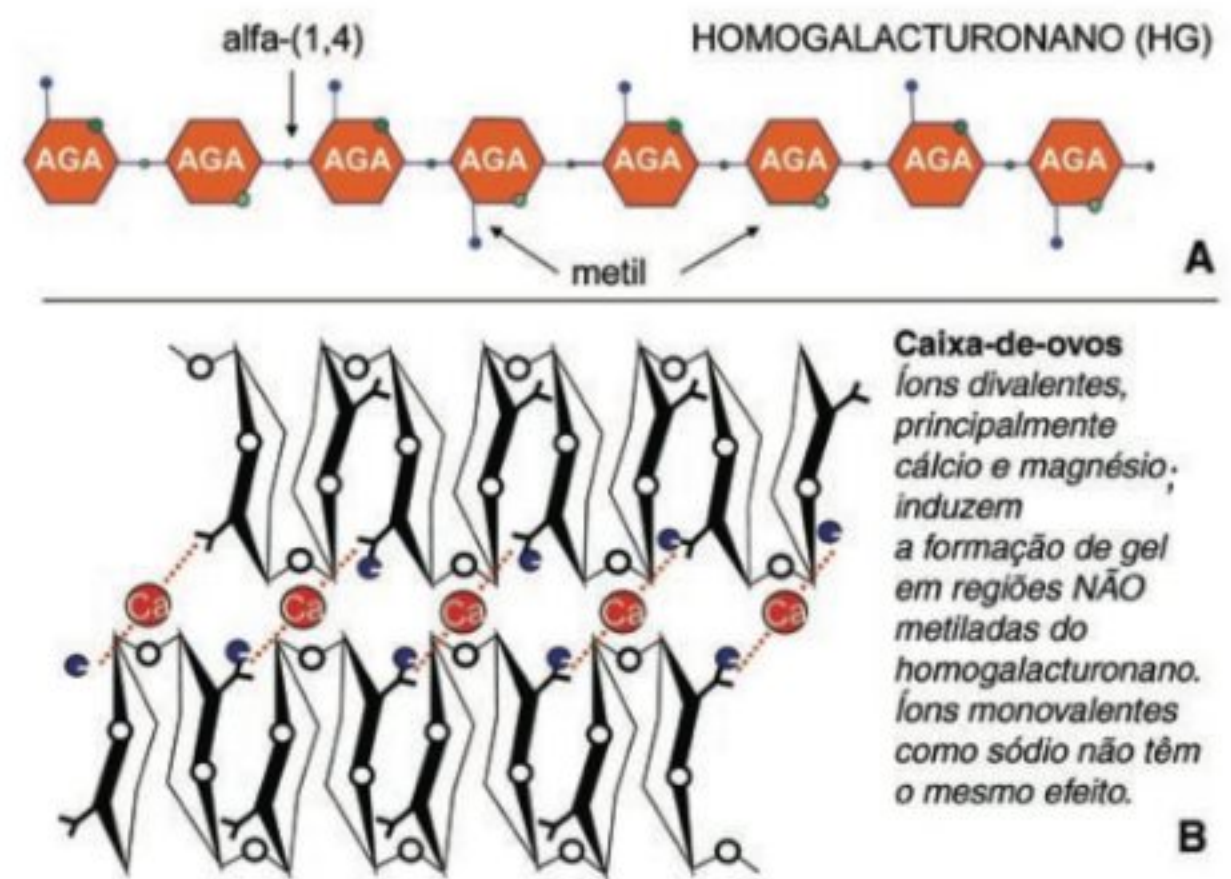


FIGURA 8.6

Pectinas. Estrutura do homogalacturonano. Forma-se uma cadeia linear de ácidos galacturônicos (AGA) que quando metilados tornam o polissacarídeo solúvel em água. Na ausência de metil-esterificações a conformação molecular do homogalacturonano interage com íons divalentes ($Mg > Ca > Sr > Ba$) formando um complexo conhecido como caixa-de-ovos. Neste caso forma-se um gel.

pode ser interrompida por unidades de ramnose, a qual apresenta ramificações longas com galactanos e arabinanos.

Quando não ramificados, os polímeros com cadeias contendo somente ácido galacturônico são denominados **homogalacturonanos (HG)** e quando ramificados são denominados **ramnogalacturonanos (RG)** (Figs. 8.6 e 8.7). Os HG são capazes de formar complexos com cálcio e magnésio. Na Fig. 8.6B é mostrado como a conformação molecular leva à formação de complexos com estes cátions. Este estado conformacional dos HG em interação com o cálcio é chamado de *caixas-de-ovos*. O cálcio e também o magnésio são cátions que têm baixa mobilidade nas plantas devido à baixa solubilidade. A interação com as pectinas faz com que estoques desses íons envolvam cada uma das células vegetais, estoque este que pode ser acessado rápida e eficientemente, bastando uma alteração do pH do apoplasto. É possível, portanto, que a evolução das pectinas esteja diretamente relacionada à conquista da terra pelas plantas e à possibilidade de crescimento, atingindo grande porte.

Na ausência do cálcio, os HG são bastante solúveis em água devido às ligações alfa entre as unidades de ácido galacturônico. Na presença de íons cálcio e magnésio, os HG formam um gel. O grau de hidratação deste gel depende de uma outra característica estrutural. As pectinas podem apresentar diferentes graus de esterificação [formação de radical O-R, ou seja, quando algum radical (R) como metila (CH_3) ou acetila ($COCH_3$) se liga a uma hidroxila do anel do açúcar através do oxigênio de uma das hidroxilas] com radicais metila. Quanto mais metiladas menos solúveis em água, pois a metilação confere um caráter mais hidrofóbico ao polissacarídeo. O grau de esterificação com metila e o pH determinam as propriedades de formação de gel das pectinas.

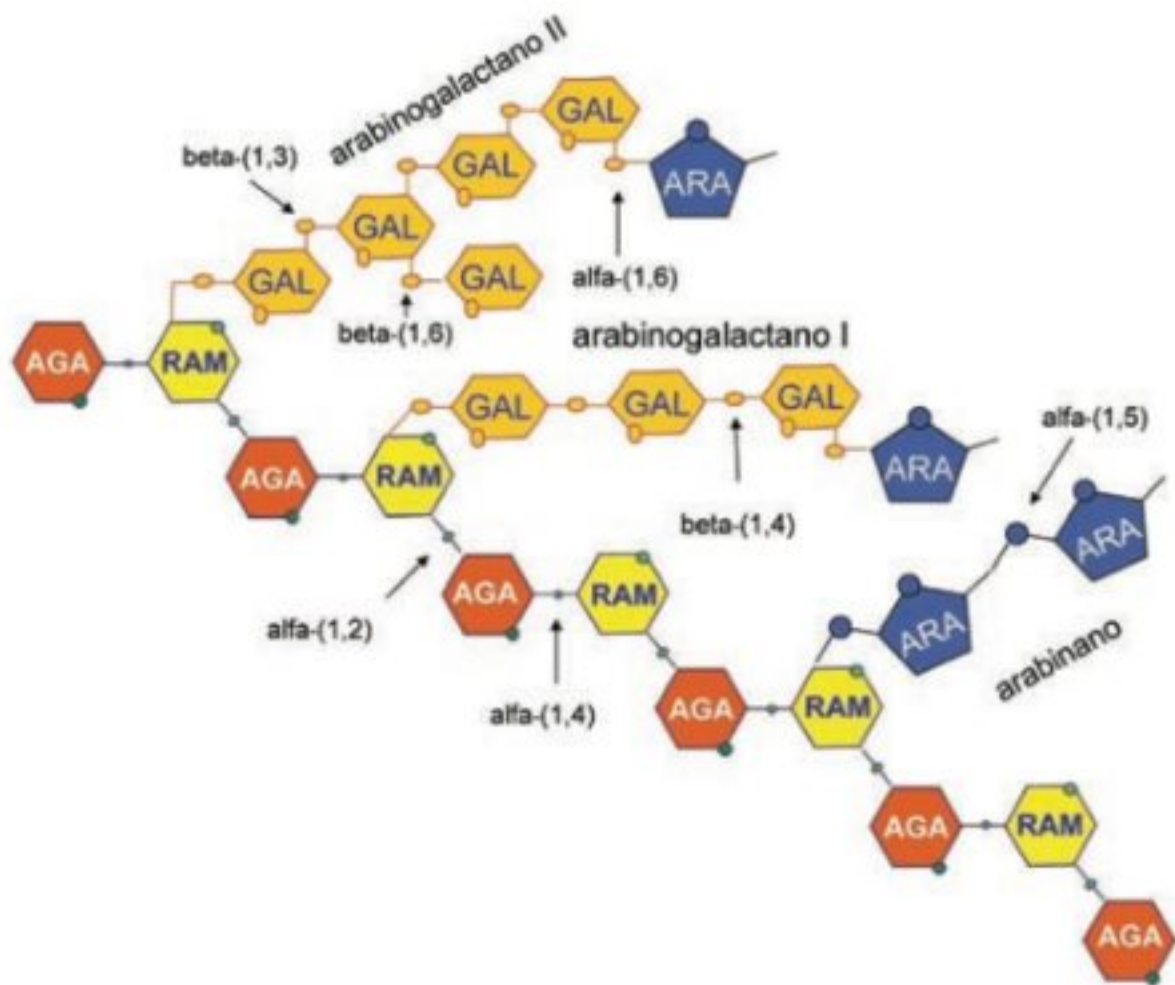


FIGURA 8.7

Principais componentes do ramnogalacturonano I, um dos principais componentes das pectinas em parede celular de plantas. A cadeia principal é formada por unidades de ácido galacturônico (AGA) e ramnose (RAM). As ramnoses podem apresentar ramificações com arabinogalactanos do tipo I (1,3-1,6 ligados) e/ou do tipo II (1,4 ligados) e/ou arabinanos (1,5 ligados). GAL = galactose, ARA = arabinose.

Em pH ácido, pectinas com baixa esterificação com metila gelificam em presença de íons divalentes, formando as caixas-de-ovos. No entanto, se o grau de esterificação for maior do que 50% há alguma interação com cálcio, mas não há a formação de gel. Portanto, o grau de esterificação com metila das pectinas determina quanto de cálcio e magnésio ficam armazenados no apoplasto e também determina a força de coesão entre as células na lamela média. Na parede celular, a pectina consiste na região mais hidratada quando comparada à celulose e às hemiceluloses. Além disso, o nível de hidratação da parede pode ser controlado por enzimas, as *metilesterases*, que retiram os radicais metila das pectinas, tornando-as mais solúveis e também capturando o cálcio através da formação de caixas-de-ovos.

Na lamela média, os chamados pectatos de cálcio e magnésio, ou seja, as caixas-de-ovos formadas pelos HG e os íons, estão entre as principais forças que mantêm as células vegetais justapostas e dão sustentação aos tecidos vegetais. Em frutos durante o amadurecimento, a solubilização da pectina da lamela média faz com que o tecido perca consistência, tornando mais difícil estourar as células e obter o líquido intracelular durante a mastigação. Em pêssegos armazenados a baixa temperatura este fenômeno pode ocorrer, dando uma consistência desagradável durante o consumo.

Na pectina da parede celular, as ramificações com galactanos e arabinanos, que se ligam às unidades de ramnose que interrompem a cadeia de HG, compreendem galactanos de dois tipos: os beta-(1,4) ligados e os 1,3-1,6 ligados, este último um dos principais compostos do café. Os arabinanos, que podem estar isolados ou ligados aos galactanos, são geralmente do tipo alfa-(1,5) ligados

(Fig. 8.7). Estes são polímeros neutros que parecem dar estabilidade aos grandes complexos pécticos da parede celular, e uma das funções destes polímeros parece estar relacionada ao grau de porosidade da parede celular.

Há ainda um outro tipo de pectina, que consiste nos **ramnogalacturonanos II (RGII)**. Estes polímeros ocorrem em pequena proporção na parede e têm algumas características das pectinas. Eles são considerados provavelmente os polissacarídeos mais complexos da natureza. Não discutiremos sua estrutura química aqui, mas é importante saber que se acredita que o RGII tenha a função de complexar o boro e mantê-lo no apoplasto. Esta é uma função muito importante, pois, como o cálcio, o boro é pouco móvel nas plantas e essencial para diversas reações nas células vegetais. Mutantes de *Arabidopsis* que não contêm, ou contêm muito pouco RGII, apresentam sérios problemas de crescimento, os quais são característicos de deficiência de boro.

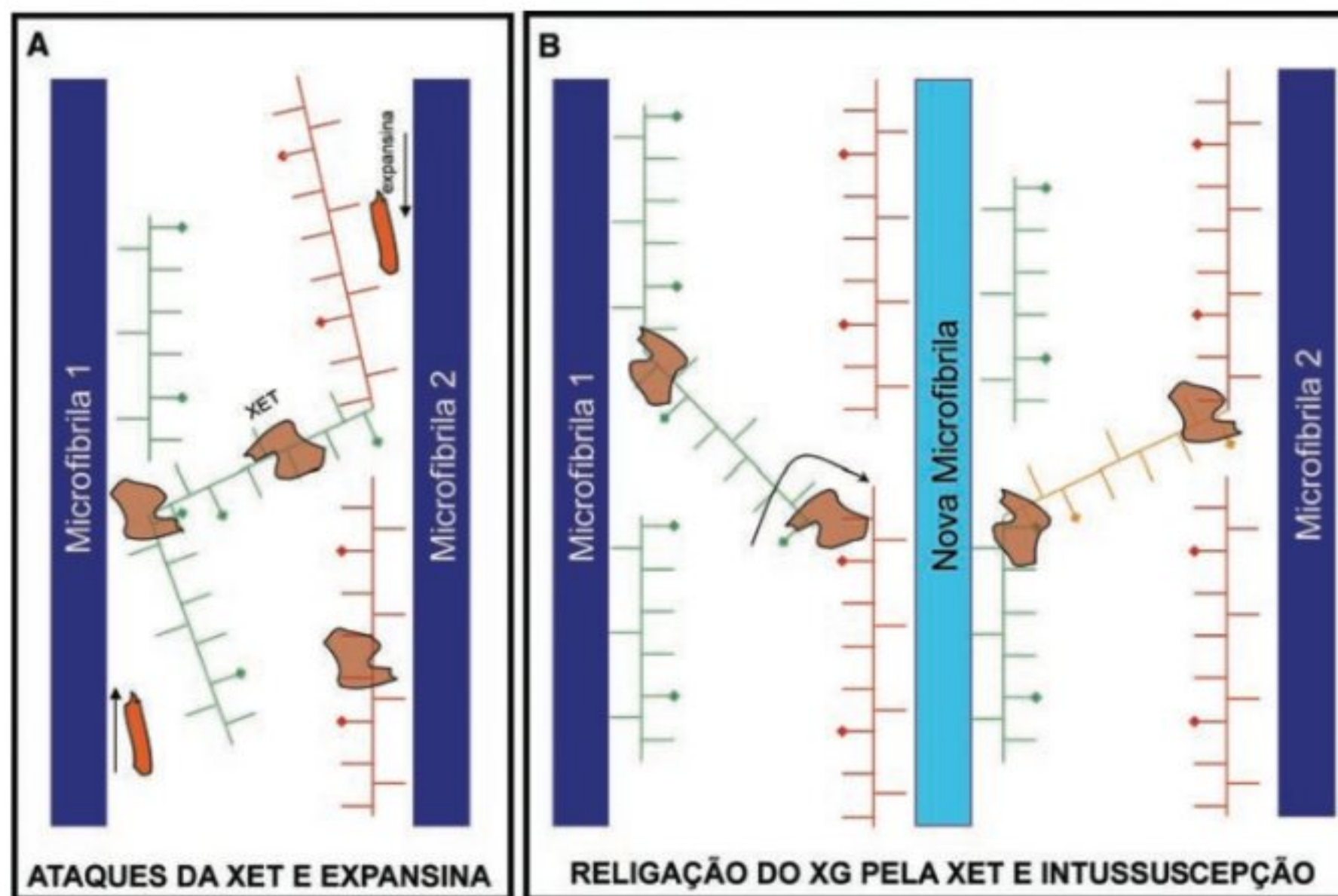
Proteínas

Apesar de ocorrerem em menor proporção (cerca de 10%), várias **proteínas** fazem parte da parede celular vegetal. Há duas classes principais: as proteínas estruturais e as enzimas. As primeiras são geralmente proteínas ricas em glicina ou hidroxiprolina e apresentam seqüências repetitivas que lembram as proteínas estruturais de animais, como o colágeno. Devido ao fato de as proteínas estruturais da parede celular serem muito pouco solúveis, houve um grande atraso nos estudos de suas estruturas e, como consequência, ainda não se compreendem bem suas funções na parede. Quando estas proteínas foram descobertas, acreditava-se que elas estavam relacionadas com o processo de extensão celular e por este motivo elas foram chamadas de **extensinas**. Posteriormente se verificou que elas não têm este papel, mas mesmo assim o nome persiste.

Na década de 1990, o grupo de Daniel Cosgrove, nos EUA, descobriu uma proteína que parece ter a função de controlar a expansão e a extensão celular (consultar o conceito no Cap. 9). Esta proteína foi denominada como **expansina**. Esta é uma proteína com características únicas, pois ela é capaz de quebrar as pontes de hidrogênio entre a celulose e as hemiceluloses. A estrutura da expansina lembra a de uma celulase, com um domínio de ligação à celulose, mas sem um sítio catalítico. Isto significa que a expansina não é uma enzima, mas uma proteína capaz de causar distúrbios conformacionais nos polissacarídeos e alterar suas interações. Hoje se acredita que sua principal função na parede seja a de desfazer a interação entre XG e celulose.

Já no caso das enzimas, há um grande número de estudos sobre suas estruturas e funções, além de terem sido clonados diversos genes que codificam para várias hidrolases de polissacarídeos da parede celular.

A parede é extremamente dinâmica, com vários componentes sendo renovados diariamente, e por este motivo, a todo o momento, um grande número de enzimas permeia o apoplasto, promovendo modificações como desramificações de hemiceluloses e pectinas, metil-esterificação de pectinas, transglicosilação e vários outros. Não é possível, neste capítulo, discutir todas as

**FIGURA 8.8**

Mecanismos moleculares envolvidos nos processos de extensão da parede e intussuscepção de novos polissacarídeos na parede. Com o aumento da turgescência celular, há uma pressão positiva que força a célula a expandir-se. A parede, apesar de possuir certa elasticidade, é resistente à expansão. Muitas células vegetais possuem mecanismos bioquímicos que permitem o afastamento das microfibrilas e colocação de mais material, permitindo o crescimento por plasticidade. Em (A) as expansinas destacam os xiloglucanos da superfície das microfibrilas. Ao mesmo tempo, moléculas de XET atacam o xiloglucano principalmente em regiões destacadas. A XET fica ligada covalentemente à molécula de xiloglucano até que encontre uma outra cadeia de xiloglucano à qual a cadeia carregada pela XET é religada. Em (B) é mostrada uma situação posterior. Uma nova microfibrila (azul-claro) e novas moléculas de xiloglucano (laranja) foram introduzidas por intussuscepção entre as duas microfibrilas anteriormente existentes. Note que a expansina não está mais presente e a XET está religando as cadeias de xiloglucano, reconstruindo o domínio celulose-hemicelulose.

enzimas importantes nos processos de modificação da parede celular, mas algumas delas serão abordadas adiante, no item sobre os papéis fisiológicos da parede. Para uma visão bastante completa do que se sabe sobre as enzimas da parede celular, pode-se visitar o site www.cazy.org.

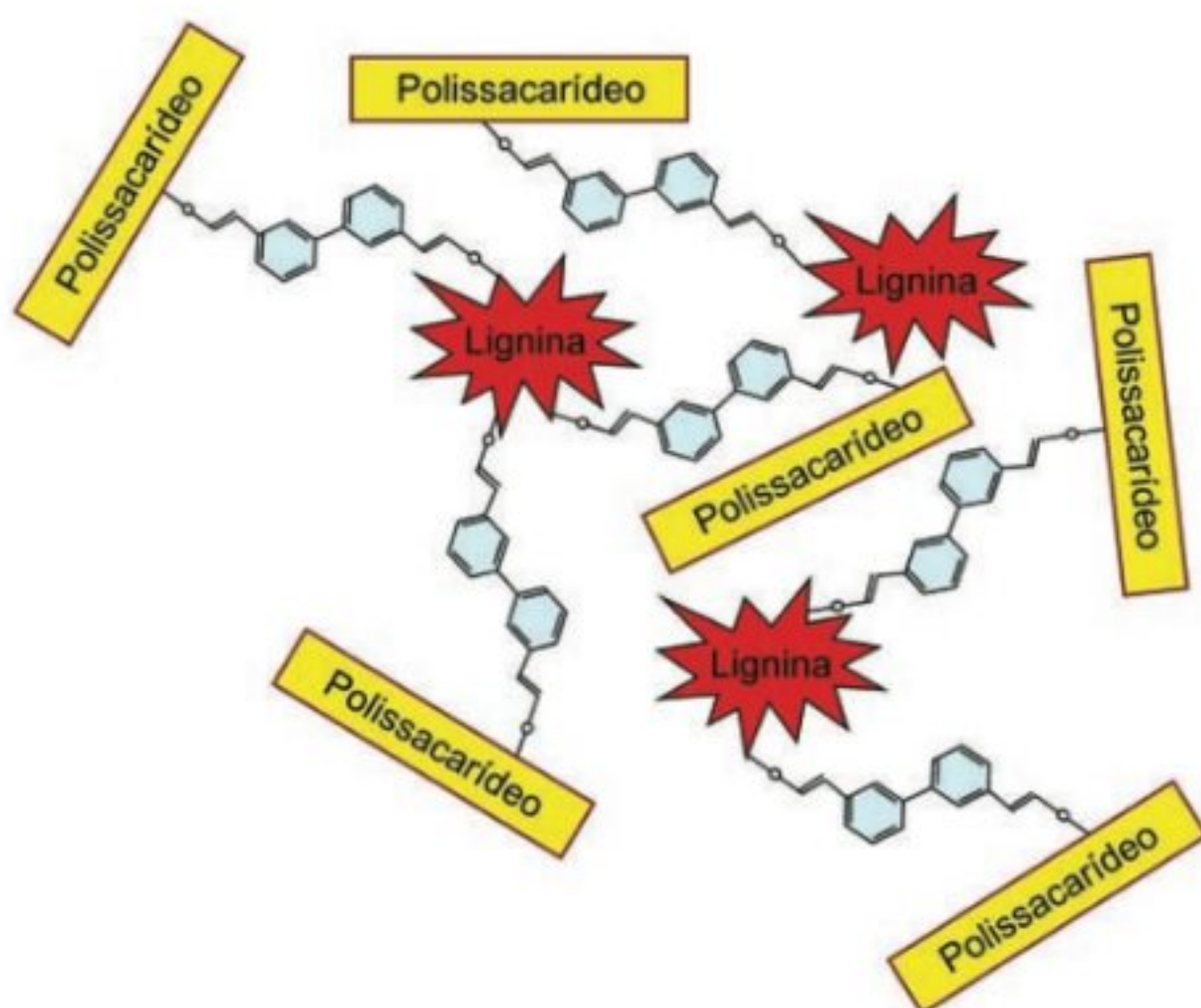
Uma enzima de parede com características não usuais é a **xiloglucano endo-transglicosilase (XET)**. Ela foi descoberta paralelamente no Japão por Kazuhiko Nishitani e na Escócia, ao mesmo tempo, nos laboratórios de Stephen Fry e John Grant Reid. Usando sistemas biológicos diferentes, os três chegaram a resultados que mostravam que o XG, quando em presença da XET, pode sofrer um processo chamado de transglicosilação. Se duas moléculas de XG são incubadas com XET, fragmentos de ambas podem ser trocados sem que os pesos moleculares das duas moléculas sejam alterados (Fig. 8.8). Descobriu-se posteriormente que a XET se liga covalentemente ao XG e transfere a molécula a ela ligada para uma outra molécula de XG solúvel. A descoberta da família das XETs resolveu uma questão que estava sem resposta sobre a expansão celular que era *como as células vegetais podem alongar e/ou expandir sem hidrólise significativa de celulose e de XG*. Hoje em dia já se conhecem vários tipos de XETs e elas são atualmente chamadas de XTHs (xilo-

glucano transglicosilase hidrolases), uma vez que há algumas que efetuam hidrólise mais intensamente do que transglicosilação.

Compostos fenólicos

Além de carboidratos e proteínas, há compostos fenólicos na parede celular. Eles são derivados de ácidos ferúlicos, álcoois sinapílicos, coniferílicos e cumáricos que podem ocorrer nas paredes de duas formas distintas.

Uma delas é a formação dos chamados anéis diferúlicos. Ácidos ferúlicos ramificando um polissacarídeo podem condensar-se com outra molécula do mesmo ácido e formar as chamadas **pontes diferúlicas** (Fig. 8.9). Acredita-se que estes compostos “travem” a parede e impeçam modificações posteriores. Compostos fenólicos se ligam aos polímeros de parede celular de monocotiledôneas (paredes do tipo II, veja adiante) fazendo com que as paredes destas plantas apresentem autofluorescência. Um possível papel biológico destes anéis diferúlicos nas paredes de monocotiledôneas poderia ser a filtração da luz ultravioleta, já que grande parte das espécies deste grupo, como as gramíneas, cresce em alta intensidade luminosa.

**FIGURA 8.9**

As pontes diferúlicas (azul-claro) são formadas por ácidos orgânicos que formam a ligação entre os polissacarídeos e a lignina. Esta última é um complexo de compostos fenólicos ligados entre si que são similares aos desenhados em azul-claro. A deposição de compostos fenólicos na parede celular é característica de paredes secundárias e de paredes do tipo II. Acredita-se que a deposição desses compostos trave a parede e impeça a continuidade do crescimento.

Nas paredes secundárias do sistema vascular das plantas, álcoois sinapílicos e coniferílicos se condensam formando uma rede que “trava” e “enrijece” a parede constituída de grandes proporções de microfibrilas de celulose cobertas com uma camada fina de hemicelulose (nesse caso o xilano, um polímero que só apresenta a cadeia principal dos GAX). É esta rede de compostos fenólicos interligados que chamamos de **lignina** (Fig. 8.9). A proporção entre lignina e celulose muda as propriedades mecânicas dos tecidos vegetais. Ramos de plantas com paredes ricas em lignina apresentam-se quebradiços, enquanto aqueles que têm maior proporção de celulose são mais flexíveis.

PROPRIEDADES FÍSICAS DA PAREDE CELULAR E SUAS RELAÇÕES COM FUNÇÕES E PAPÉIS BIOLÓGICOS

A parede celular é composta por uma mistura de polissacarídeos complexos que interagem entre si formando um compósito (um material feito de várias substâncias diferentes) com propriedades similares a um cristal líquido. Num cristal líquido, as moléculas podem ter diferentes graus de liberdade de movimento. Isto gera uma situação tal que um cristal líquido pode exibir propriedades de sólidos e líquidos ao mesmo tempo. Enquanto algumas moléculas apresentam-se no estado líquido, no mesmo compósito, outras se apresentarão como se fossem cristais.

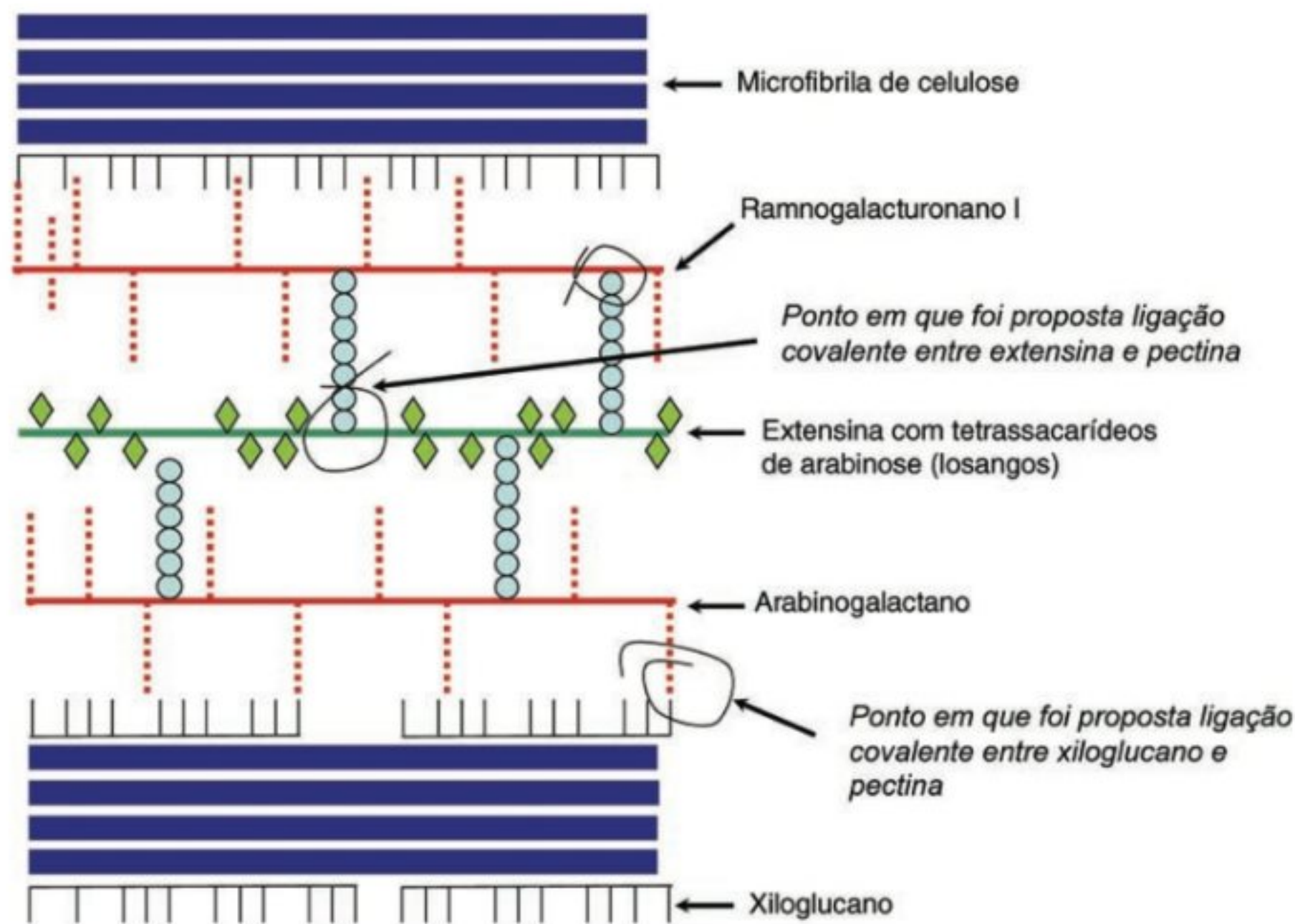
Muitas substâncias apresentam uma propriedade chamada ponto de fusão e, se aquecidas, mudam de fase (p. ex., de sólido

para líquido) abruptamente em uma dada temperatura. A água pura, por exemplo, desde que em uma pressão de 1 atmosfera, tem um ponto de fusão de 0°C. Outras substâncias, como o vidro, não apresentam um ponto de fusão, mas uma fase mais longa e mais lenta de mudança de fase chamada de *transição vítrea*. A parede celular das plantas, sendo composta por vários polímeros com estruturas diferentes, apresenta características compatíveis com as de um cristal líquido em que alguns polímeros podem apresentar um real ponto de fusão (p. ex., a celulose) enquanto outros podem apresentar transição vítrea (p. ex., o XG). Assim, enquanto a celulose forma um verdadeiro cristal, que é sólido, as hemiceluloses têm propriedades de materiais amorfos e apresentam transição vítrea. Ao compreendermos estas propriedades é possível inferir que existe um alto nível de complexidade relacionado às propriedades emergentes da parede celular com todos os seus polímeros. Há também um alto nível de complexidade em como as forças de tensão e coesão entre os polímeros se distribuem no compósito gerando propriedades mecânicas emergentes que permitem que células delicadas mantenham a sua forma e função sob o peso de várias toneladas.

O equilíbrio entre as forças de tensão e coesão e as propriedades de cristal líquido da parede são fundamentais para a planta, pois, ao mesmo tempo em que certos tecidos vegetais têm que ser extremamente delicados de forma que células na polpa de um fruto estourem e deixem o conteúdo intracelular à disposição dos animais, fenômeno este ligado à dispersão das sementes, outros tecidos suportam pressões gigantescas, como, por exemplo, as células da base de uma grande árvore, que têm que suportar o peso de toda a árvore, geralmente de várias toneladas. Já nas raízes, as células da parte externa têm que ser capazes de ficar expostas no solo e ao crescerem sofrem atrito ao mesmo tempo que estão diretamente expostas aos microrganismos do solo. Já nos tecidos internos da raiz, as células apresentam estruturas delicadas que selecionam íons e deixam passar água. Numa semente, as paredes celulares podem conferir grande resistência aos tecidos, de forma a evitar ou dificultar a predação. Algumas apresentam paredes celulares extremamente espessas, que funcionam como reserva de carbono para a plântula crescer. Estes são apenas alguns dos papéis biológicos que paredes celulares podem desempenhar nas plantas. Toda a diversidade de propriedades físico-químicas e biológicas das paredes celulares de diferentes tecidos pode ser explicada pelo fato de encontrarmos diferentes combinações de compostos nas paredes celulares de uma única planta, dependendo do tecido que analisarmos. Assim, as propriedades físicas de cada parede dependem da combinação de polímeros nela existentes que são em quantidade bastante restrita, considerando o grande número de possibilidades.

MODELOS DA PAREDE CELULAR VEGETAL

Por volta de 1970, já se conhecia a estrutura química de muitos dos compostos da parede celular. Em outras palavras, a esta altura se sabia como as glicoses se ligam entre si e quais os principais

**FIGURA 8.10**

Modelo de parede celular proposto em 1973 por Peter Albersheim e colaboradores. Neste, as ligações covalentes (exemplos circundados) seriam a principal forma de manter os diferentes polissacarídeos em interação. Note, porém, que a interação não-covalente entre xiloglucano e celulose já havia sido proposta neste modelo.

tipos de ligações glicosídicas existentes entre as hemiceluloses e as pectinas. Um grupo de pesquisas liderado por Peter Albersheim, na Universidade da Geórgia nos EUA, vinha trabalhando com células em suspensão de plátano (*Acer pseudoplatanus*). Os pesquisadores separaram os polímeros da parede celular e determinaram as suas estruturas químicas, mas eles não usaram apenas as ferramentas químicas para sondar a estrutura da parede. Eles também a trataram com um coquetel de enzimas e observaram que apenas alguns pontos eram atacados.

Em uma série de três trabalhos que se tornaram clássicos da fisiologia vegetal, o grupo de Albersheim (um dos quais citados abaixo como Keestra *et al.*, 1973) propôs o primeiro modelo para o arranjo de polímeros na parede celular (Fig. 8.10). Nesta proposta, a celulose interagia com as hemiceluloses (o xiloglucano no caso do plátano), e entre as microfibrilas de celulose cobertas com hemicelulose a pectina abrigaria as proteínas ricas em hidroxiprolina e glicina. Esta idéia trouxe uma nova dimensão de interpretação do que seria a parede celular. Ao invés do conceito quase estritamente focado na celulose, que advém mais das paredes do sistema vascular (Fig. 8.1B), o grupo de Albersheim abriu o caminho para novas idéias, indo além da importância das ligações químicas e colocando em evidência as interações entre os polímeros. O grupo de Albersheim sugeriu que esses polímeros possuiriam papel fundamental nas funções biológicas da parede celular. No modelo então proposto, a parede se sustentaria majoritariamente por ligações covalentes entre os polímeros. Em outras palavras, deveria haver ligações cova-

lentes entre a celulose e a hemicelulose, entre a hemicelulose e as pectinas e entre as pectinas e as proteínas.

Por quase 20 anos, grupos de pesquisa por todo o mundo buscaram as ligações covalentes previstas pelo grupo de Albersheim. Apesar de terem encontrado evidências aqui e ali, não foi observado um padrão universal que sustentasse o modelo de 1973.

Em 1991, Maureen McCann e Keith Roberts, do John Innes Institute na Inglaterra, empregaram, pela primeira vez, o termo arquitetura, usando-o com um fim funcional, para definir a parede celular. A arquitetura pode ser definida como a arte e a ciência de desenhar construções. Ela envolve o posicionamento dos elementos considerando forma, luz e sombra, volume, textura, materiais e, além disso, elementos de custo e tecnologia. A finalidade da arquitetura seria atingir formas estéticas, artísticas e funcionais.

O termo arquitetura é bastante adequado para abordar a parede celular, pois envolve a determinação de funções por materiais dispostos em posições que geram motivos análogos ao volume e textura, os quais ajudam a definir o termo. Para definirem a parede celular, os autores sugeriram que a existência de ligações covalentes entre todos os polímeros de parede celular poderia não ser tão importante quanto se achava. Os polímeros poderiam interagir através de forças mais fracas (pontes de hidrogênio, p. ex.) e formar complexos de polímeros independentes, gerando assim diferentes motivos arquitetônicos.

De fato, o novo modelo de parede celular proposto por McCann e Roberts (Fig. 8.11) era fortemente baseado na proposta

de 1973, mas com a diferença de que abandonava a idéia das ligações covalentes entre os polímeros e propunha a co-existência do que se chamaram domínios da parede celular. Este é um modelo descontínuo da parede celular em que os três domínios seriam: 1) celulose–hemicelulose, 2) pectinas e 3) proteínas (Figs. 8.11 e 8.12). No modelo descontínuo, o domínio paracristalino celulose–hemicelulose, assim como o domínio protéico, estariam embebidos em uma matriz péctica (Fig. 8.12). Este modelo se adequou muito bem às idéias em voga na década de 1990 e ajuda a explicar muitos eventos fisiológicos, além de permitir explicações razoáveis sobre as propriedades físico-químicas da parede celular.

O terceiro salto na modelagem da parede celular foi realizado pelos fisiologistas vegetais Nicholas Carpita e David Gibeau, da Universidade de Purdue nos EUA. Em 1993, eles publicaram uma revisão em que separaram as paredes celulares em dois tipos, com base na composição dos domínios. Os dois tipos, portanto, possuiriam diferentes arquiteturas. As paredes do tipo I (Fig. 8.13) seriam aquelas que possuem como principal hemicelulose o xiloglucano. As pectinas, nas paredes do tipo I, se apresentam, em média, como 30% do total de polímeros da parede e são características das dicotiledôneas e parte das monocotiledôneas. Carpita e Gibeau caracterizaram as paredes do tipo II (Fig. 8.13B) como aquelas cuja principal hemicelulose é o glucuronoarabinoxilano em substituição ao xiloglucano. Essas, por sua vez, são paredes que têm proporções relativamente menores de pectinas em comparação às do tipo I e são características de monocotiledôneas. Outras duas distinções importantes observadas pelos autores foram que as gramíneas (na realidade todo

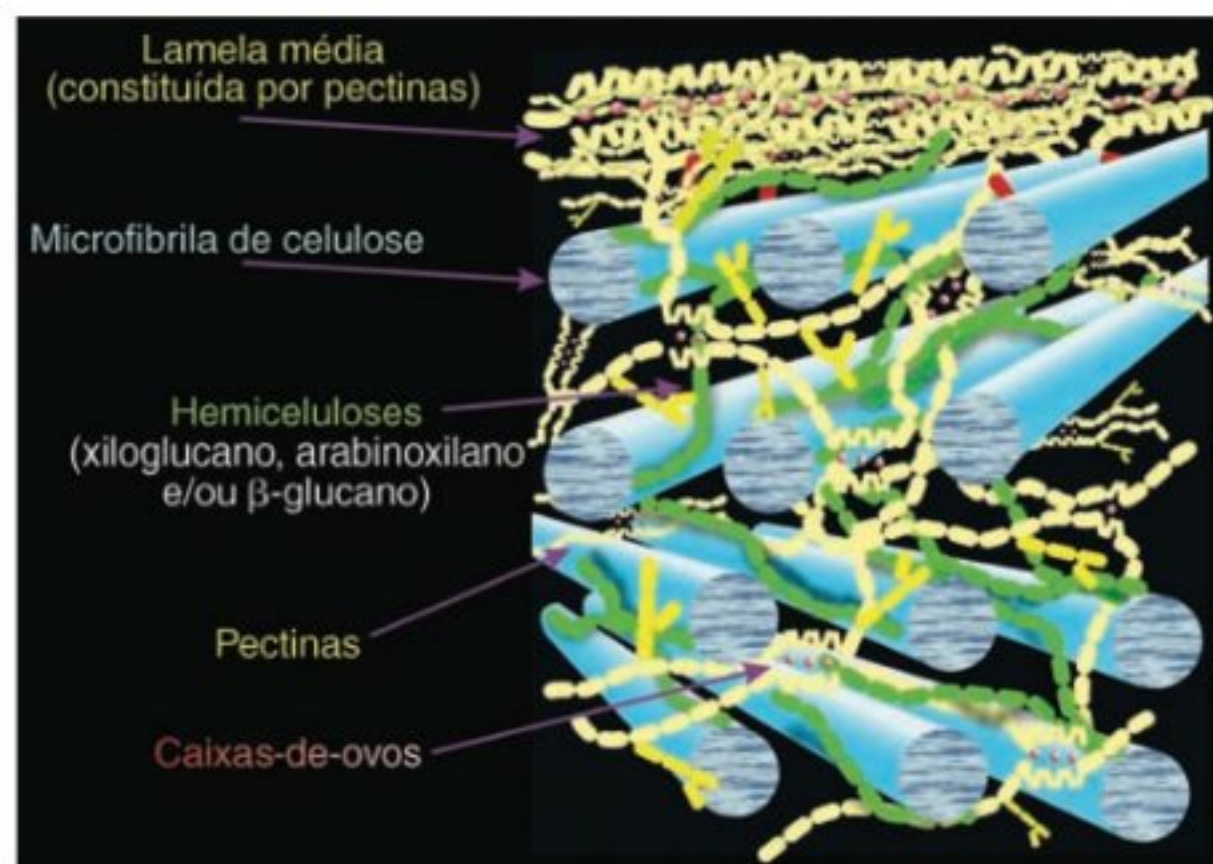


FIGURA 8.11

Desenho representativo do modelo descontínuo da parede celular proposto por Maureen McCann e Keith Roberts em 1991. Neste modelo, foram suprimidas as ligações covalentes entre diferentes polissacarídeos. A interação entre hemicelulose e celulose foi conservada formando o domínio celulose–hemicelulose e foi proposto que as pectinas interagindo em pontos que formam as caixas-de-ovos (junção em verde dentro do círculo branco) formariam um domínio independente. As proteínas foram suprimidas para facilitar a visualização.

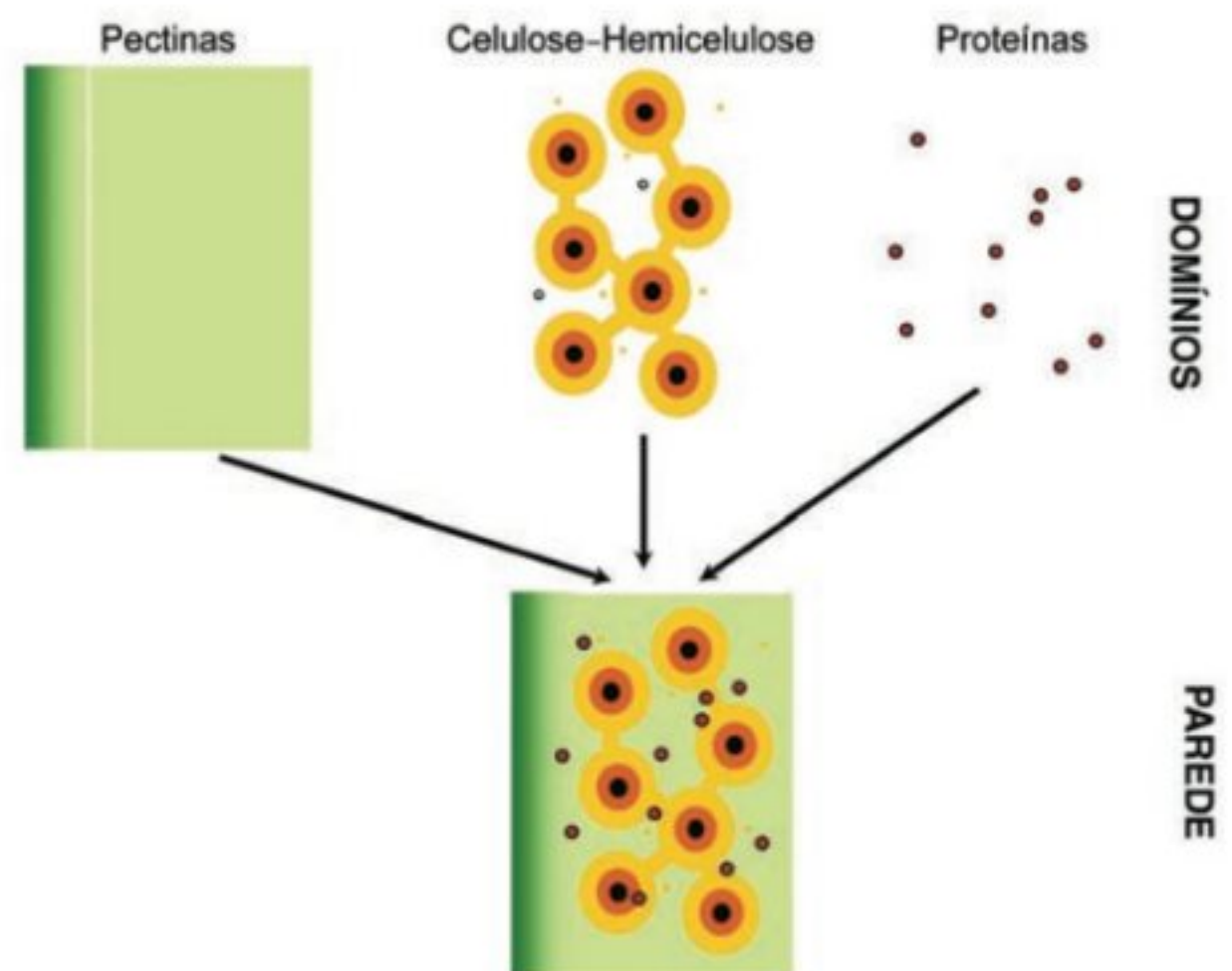


FIGURA 8.12

Modelo descontínuo da parede celular. Neste desenho a parede é mostrada em “corte transversal” ao eixo das microfibrilas. Ao invés de se sustentar por ligações covalentes, a parede celular primária é composta por três domínios independentes: pectinas, celulose–hemicelulose e proteínas. Os três coexistem independentemente, ou seja, sem ligações químicas covalentes, mas por interações fracas (pontes de hidrogênio).

o grupo de espécies em Poales) são as únicas que apresentam, entre as hemiceluloses, os glucanos de ligação mista e que estas paredes apresentam grande quantidade de compostos fenólicos e fluorescem intensamente sob luz ultravioleta.

No presente estágio do conhecimento sobre parede celular, ainda não se sabe quais foram as pressões seletivas que levaram ao aparecimento dos subgrupos atuais em dicotiledôneas e monocotiledôneas. Suspeita-se que características ligadas às diferentes estratégias de crescimento ou de defesa contra o ataque de herbívoros possam estar relacionadas a estes eventos.

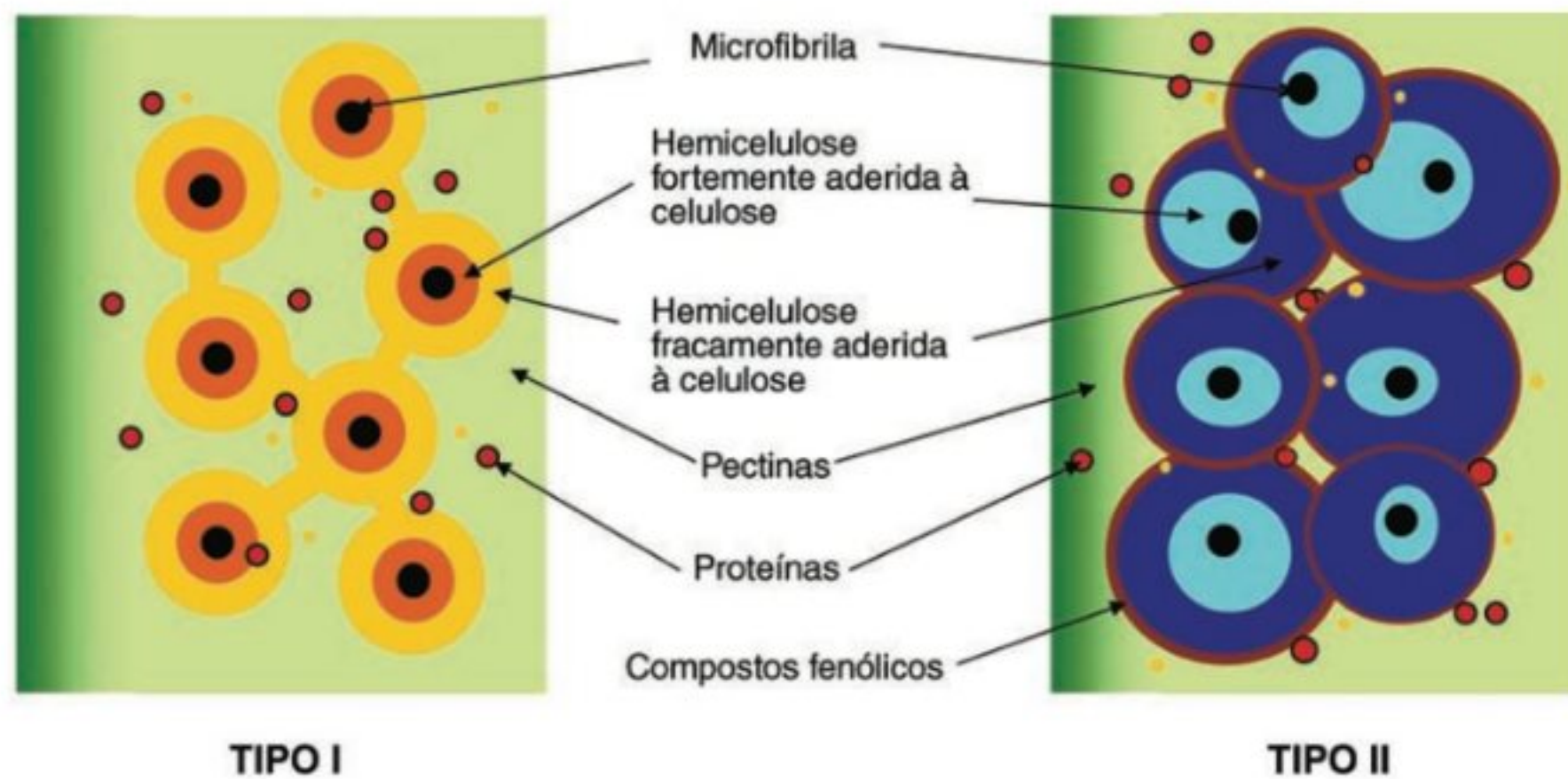
Uma das lacunas na abordagem de modelos da parede celular é a falta de estudos sobre os domínios e seus papéis fisiológicos. Neste sentido, modelos que contemplem estes aspectos provavelmente serão os alvos dos estudos futuros sobre a parede celular.

FUNÇÕES E PAPÉIS BIOLÓGICOS DA PAREDE CELULAR

Utilizando o conceito de função e papel biológico proposto por Ernst Mayr, a parede celular vegetal poderia ser vista como possuindo duas funções:

- 1) Determinação da forma e distribuição de forças nas células e tecidos;
- 2) Manutenção de cátions ao redor das células.

A primeira função está diretamente relacionada com a capacidade que cada combinação de polímeros tem no controle da

**FIGURA 8.13**

Arquitetura das paredes celulares dos tipos I e II segundo as idéias de Nick Carpita e David Gibeaut em 1993. Na parede do tipo I, o domínio celulose–hemicelulose é composto por xiloglucanos com diferentes tipos de ramificações que lhe conferem diferentes níveis de adesão às microfibrilas (tons de laranja). As proporções entre celulose, hemicelulose e pectinas é equilibrada. Na parede do tipo II, a principal hemicelulose é o arabinoxilano (azul). Acredita-se que quando ele é sintetizado as ramificações com arabinose são retiradas quando na parede. O polímero menos ramificado adere fortemente às microfibrilas (azul-claro), enquanto o mais ramificado adere fracamente (azul-escuro). Diferente dos xiloglucanos, os arabinoxilanos parecem ligar-se entre si por compostos fenólicos, que são mais abundantes nas paredes celulares do tipo II. Nas paredes do tipo II a proporção de pectina é menor do que celulose e hemicelulose.

extensão e/ou da expansão celular e também na estabilização das forças de tensão e coesão nas células e tecidos vegetais. Durante a divisão celular, forma-se o fragmoplasto, um conjunto de microtúbulos, microfilamentos e retículo endoplasmático que servem de andaime para a iniciação de uma nova parede celular durante o processo de divisão celular em vegetais. Antes da divisão há um período de extensão e/ou expansão celular, o qual é caracterizado pelo afrouxamento da parede através de alterações na interação entre hemicelulose e celulose e também nos níveis de ramificação das pectinas. Em dicotiledôneas, a expansina tem papel importante neste processo, pois ela age sobre o xiloglucano, permitindo que as microfibrilas se afastem umas das outras e abrindo espaço para a adição de novas microfibrilas. Paralelamente, a XET quebra e refaz ligações internas das moléculas de xiloglucano, evitando que as microfibrilas percam sua orientação geral. Parece ser durante este período, em que o xiloglucano perde parcialmente sua interação com a celulose, que novas microfibrilas, hemicelulose e pectinas são colocadas nos espaços recém-formados entre as moléculas. Quando microfibrilas de celulose são colocadas em uma parede preexistente, o processo é chamado de intussuscepção¹ (Fig. 8.8).

A força física que conduz o processo de expansão celular e aumenta a tendência de afastamento das microfibrilas é a

turgescência da célula, dada pela pressão interna exercida pela água. Esta pressão faz com que a célula se expanda, o que de fato provoca o afastamento das microfibrilas, já que a ação da expansina faz com que o xiloglucano seja destacado da superfície das microfibrilas de celulose (Fig. 8.8). Acredita-se que a ação conjunta da expansina e da XET permitam um afastamento muito bem controlado das microfibrilas durante o crescimento. Se as microfibrilas estiverem em deposição ao acaso a célula se expandirá isodiametricamente (como uma esfera), mas se houver deposição organizada (ou orientada) de microfibrilas, haverá sentidos específicos para a expansão e a este fenômeno se dá o nome de *alongamento celular* (Fig. 8.8). Uma vez que o espaço entre as microfibrilas se forme, novas microfibrilas de celulose e moléculas de XG são secretadas para o espaço extracelular e a XET “costura” a nova rede de moléculas (Fig. 8.8). Com isto, durante a expansão, normalmente a espessura da parede se mantém, o que sugere que, ao mesmo tempo em que ocorre intussuscepção, novas camadas de parede são depositadas sobre a parede preexistente.

Todo este processo está associado à ação das auxinas em tecidos vegetais. Durante o crescimento, o ápice e as folhas da planta produzem o hormônio, que é transportado para todos os tecidos em crescimento. A auxina, além de promover uma acidificação da parede celular ao entrar nas células, facilitando a quebra de ligações de pontes de hidrogênio entre o xiloglucano e celulose, também induz a transcrição de vários genes relacionados a enzimas de parede celular, como hidrolases e metilsterases de pectinas.

Assim, com um aumento do influxo de água na planta devido à abertura dos estômatos, bem como a síntese e o transporte

¹Foi traduzido do termo em inglês *intussusception* que, em botânica, significa a colocação de material novo entre materiais mais antigos. Em português a palavra intussuscepção é usada em biologia como “penetração em outra área”. No presente capítulo, seguimos a conotação inglesa usada em botânica e já utilizada para definir a colocação de material de parede celular recém-sintetizado entre os materiais da antiga parede por James Bonner (1934).

polar de auxina, a expansão celular em tecidos em crescimento é um processo que necessita, ao mesmo tempo, de atividades de degradação ou rearranjo de polímeros e também de biossíntese de polissacarídeos com deposição na parede preexistente. Em cana-de-açúcar foi observada expressão de genes relacionados à degradação e biossíntese simultaneamente em toda a planta (Lima *et al.*, 2001). Em *Arabidopsis*, o grupo de Steve Kay, nos EUA (Harmer *et al.*, 2000), mostrou que os genes relacionados à biossíntese de polissacarídeos de parede celular apresentam um pico no fim do período noturno, enquanto os genes relacionados com expansina e ataque a pectinas tiveram um pico no fim do dia. Nesse caso, os produtos dos genes (as enzimas) e seus efeitos ocorreriam durante o dia e a noite, respectivamente. Assim, pelo menos para *Arabidopsis*, o afrouxamento da parede parece ocorrer durante o período noturno, enquanto a deposição dos produtos de síntese, ou seja, a intussuscepção, aparentemente ocorre durante

o dia. Isto denota o fato de que as paredes celulares não são estruturas sintetizadas uma única vez na vida da planta, mas que elas são constantemente rearranjadas, respondendo aos padrões de fluxo de carbono na planta e integradas ao metabolismo da planta (Fig. 8.14).

É interessante ressaltar que a força motriz do processo é a entrada de água nos tecidos, o que exige a abertura dos estômatos que conectam o sistema solo-água-atmosfera. Como consequência, ocorre a entrada de CO_2 , que permite o funcionamento da fotossíntese, fornecendo o carbono e a energia para o crescimento que se dará principalmente durante o período noturno (Fig. 8.14).

Durante o desenvolvimento, um tecido vegetal tem que lançar mão de dois processos. Um deles é a divisão celular e o outro é a expansão e/ou alongamento celular. Nas plantas, um terceiro processo é crucial para a formação do xilema e mesmo para a

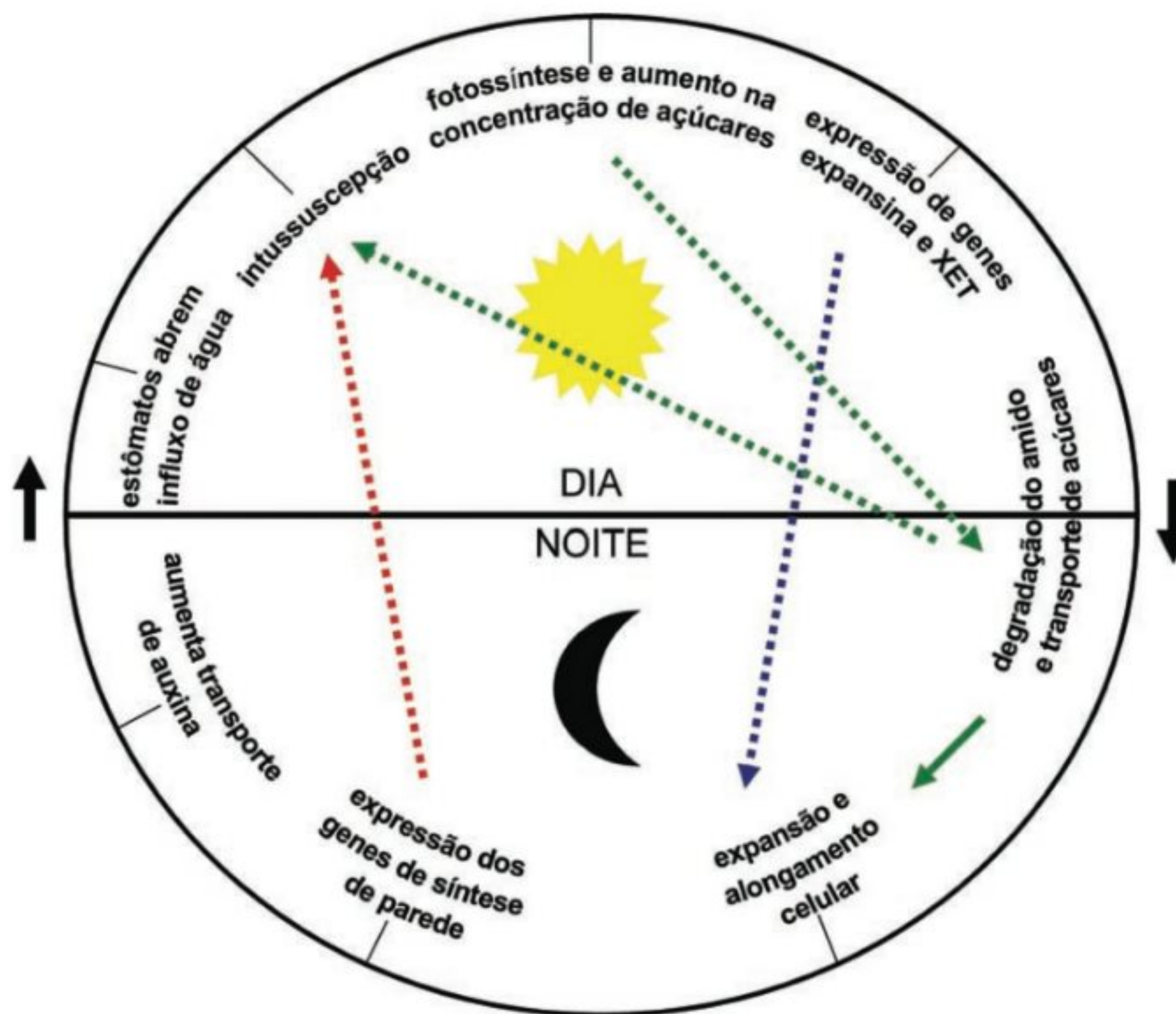


FIGURA 8.14

Roda do crescimento. A parede celular está diretamente relacionada com o crescimento das plantas, pois após a divisão se dá o processo de expansão e/ou alongamento celular. Nas folhas e no ápice de plantas em crescimento ocorre a produção e o transporte de auxina pela manhã, concomitantemente com o início do influxo de água e nutrientes devido à abertura estomática. A entrada de água gera uma pressão positiva sobre as células cujas paredes já sofreram afrouxamento durante a noite anterior. Entre as microfibrilas que se afastaram devido ao afrouxamento (ver também a Fig. 8.8) ocorre a deposição de mais material de parede. Neste momento, a célula se torna mais resistente à expansão e a força de turgor começa a aumentar. No meio do dia, com os estômatos abertos e a fotossíntese funcionando, as células foliares armazenam amido. No fim do dia ocorre a expressão dos genes relacionados à expansão celular e ao mesmo tempo começa a mobilização do amido que, transformado em sacarose, é transferido para os tecidos com potencial de crescimento. À noite, expansina e XET produzidas a partir da expressão gênica começam a operar o processo de afrouxamento da parede. Este é seguido pela expressão dos genes de síntese de compostos de parede. O ciclo é fechado com o reinício do transporte polar de auxina.

queda de frutos e folhas (ver Cap. 13, Etileno), a morte celular programada.

Geralmente, os tecidos de frutos passam por um período de divisão celular bem no início do processo de crescimento e posteriormente crescem somente por expansão (ver Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento). A capacidade de expansão celular é uma característica notória de vários tecidos vegetais. Em um fruto de mamão o período de divisão ocorre até o ponto em que ele atinge 5-10 cm. Daí em diante, o crescimento se dá praticamente só por expansão até que as paredes sejam novamente alteradas, impedindo que a expansão continue (Fig. 8.15). Pode-se deduzir, portanto, que a capacidade de expandir é crucial para o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais e que as paredes celulares são os principais atores neste processo.

A expansão celular se dá em todos os sentidos e é fácil de deduzir como isto acontece em um tecido em que as células são isodiamétricas. No entanto, ao observarmos as formas celulares em uma folha o arranjo não é tão simples. As células epidérmicas

são achatadas e algumas delas se transformam em estômatos, a camada paliádica apresenta células alongadas em um dos eixos e as do parênquima lacunoso podem apresentar em alguns casos formas estreladas que produzem um grande espaço intercelular que permite ao CO_2 fluir entre as células e atingir o máximo possível de superfície celular naquele tecido.

Já no caule, o nível de complexidade dos processos de diferenciação pode ser bem mais alto, com células que se alongam e se dividem em diferentes sentidos. Do ponto de vista funcional, a parede celular ainda carece de observações e experimentos, mas já se sabe que a deposição das microfibrilas de celulose nas fibras do caule tem papel fundamental no equilíbrio de forças que fazem com que a madeira tenha características tão importantes como no floema e no xilema, em que algumas células possuem perfurações que deixam passar os nutrientes e os fotoassimilados. No tecido vascular, forma-se uma rede de canais interligados que permitem a comunicação precisa entre fontes e drenos durante o crescimento, fazendo com que tecidos em desenvolvimento tenham suas células em divisão e expansão, por exemplo, em um fruto ou uma semente, os quais necessitam receber as quantidades adequadas de água e nutrientes. Todos estes processos constituem a ação orquestrada por padrões de expressão gênica que produzem as proteínas que conduzem o desenvolvimento das paredes celulares, gerando as relações morfofuncionais que fazem com que o vegetal funcione e sobreviva no ambiente natural ou em condições de cultivo.

Em todos os casos mencionados acima, os processos de divisões assimétricas e posterior expansão celular constroem tecidos com diferentes papéis biológicos, que são decorrentes da função de determinação da forma e distribuição das forças nas células e tecidos.

As raízes, por possuírem tecidos similares ao do caule, têm muitas células com funções como o transporte de água, de nutrientes e o armazenamento de compostos de reserva.

A função primária da raiz é a absorção e o transporte de água e nutrientes para a planta. A parede celular, neste caso, tem um papel importante na captação e distribuição de cátions divalentes. Estes íons (cálcio, magnésio e boro) ficam armazenados, os dois primeiros nas caixas-de-ovos e o boro no RGII, ambos pertencentes ao domínio péctico da parede.

Em outros órgãos, as pectinas exercem papel na sinalização celular relacionado ao ataque de microrganismos. Quando um fungo invade uma planta e ataca a célula vegetal com enzimas que digerem a parede celular, os fragmentos (oligossacarinas) de pectina produzidos pela ação enzimática (normalmente endopoligalacturonases que atacam o HG) disparam um sinal intracelular que faz com que a célula atacada emita sinais para as células adjacentes, induzindo a produção de fitoalexinas, as quais são compostos do metabolismo secundário que funcionam como defesa para a planta (Marques *et al.*, 2006).

Muitas sementes podem armazenar compostos de parede celular como reserva (Buckeridge *et al.*, 2000), como é o exemplo das sementes de Leguminosae, apresentam um endosperma quando maduras e acumulam grandes quantidades de galactomanano (uma hemicelulose), enquanto sementes

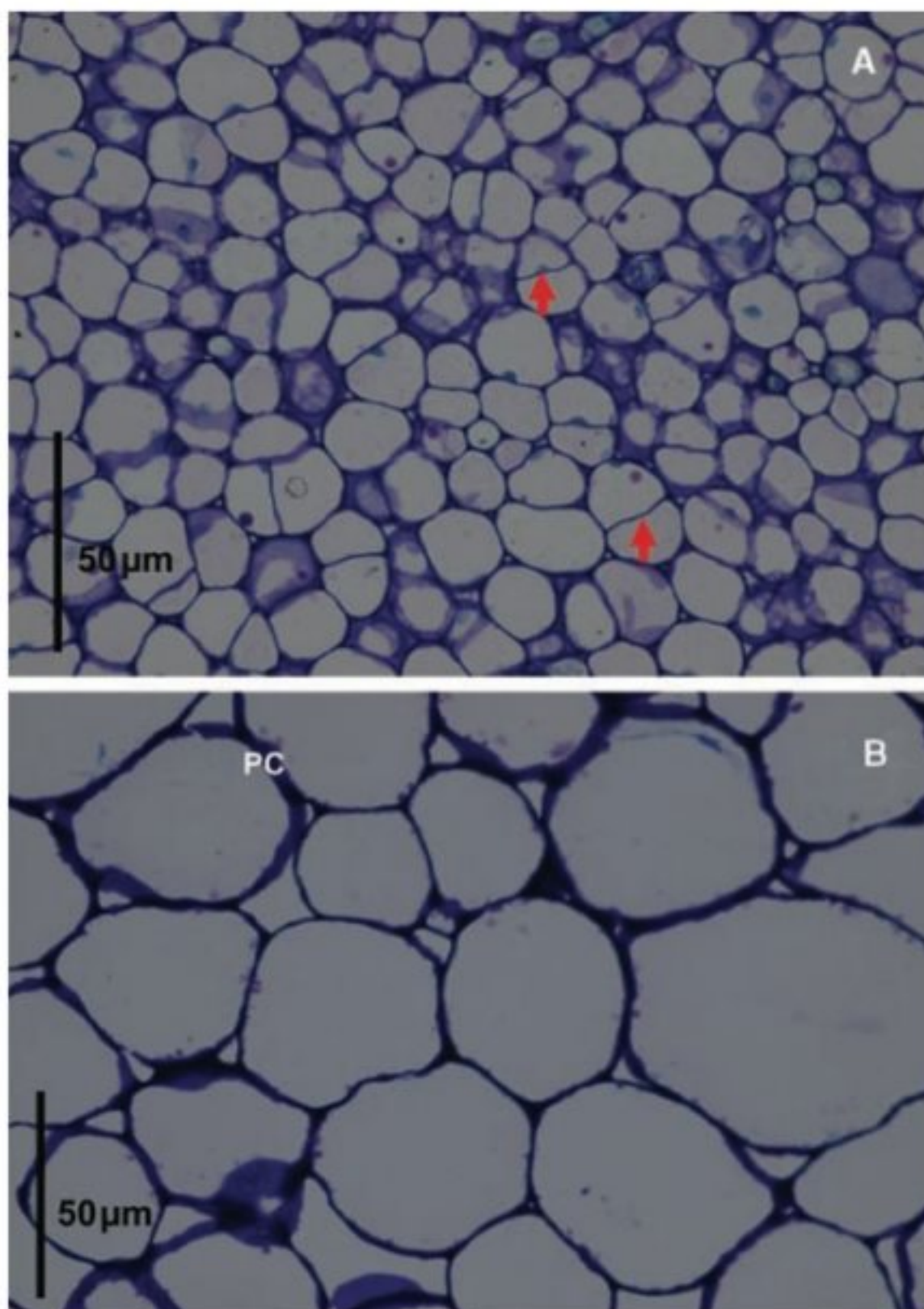


FIGURA 8.15

Expansão celular em frutos de mamão. Cortes transversais do mesocarpo de frutos de mamão aos 5 (A) e 150 dias (B) após a antese. Nota-se um aumento de cerca de 3× no volume celular ao longo do período. Veja também que aos 5 dias há várias células em divisão (setas vermelhas), enquanto aos 150 só há expansão. PC = parede celular.

cuja reserva de carbono fica nos cotilédones podem apresentar grande quantidade de xiloglucano ou galactano (uma pectina). Em palmeiras (p. ex., palmito) e Rubiaceae (p. ex., café) mananos puros são armazenados nas sementes. Este tipo de armazenamento pode ser uma vantagem para a planta no sentido de que estes polímeros não são facilmente degradados por predadores (ou o número de organismos capazes de fazê-lo é menor), evitando herbivoria e assim aumentando a probabilidade de deixar um maior número de descendentes jovens. Os mecanismos de síntese e degradação dos polissacarídeos de reserva de sementes são essencialmente os mesmos que se encontram nas paredes primárias.

PAREDE CELULAR E A BIOTECNOLOGIA

A parede celular é de grande importância como um produto natural em biotecnologia. Seus componentes são usados comercialmente para fabricação de manufaturas têxteis, fibras como algodão, linho, aditivos de alimentos, papel (Lima *et al.*, 2003).

O interesse na importância da parede celular e seus componentes para os alimentos vem crescendo sensivelmente nos últimos anos. Tal crescimento no interesse se deve principalmente à importância que as fibras alimentares adquiriram no final do século XX (Buckeridge *et al.*, 2006). As propriedades dos polissacarídeos da parede celular têm também papel na textura dos alimentos, sendo, portanto, essencial compreender a estrutura dos polissacarídeos e suas interações.

Em frutos, os estudos se concentraram principalmente no processo de amadurecimento, um estágio em que se observam claramente alterações de textura que têm sido atribuídas a modificações na parede celular. Este processo começa com a fecundação do óvulo, quando ocorre o disparo do programa de desenvolvimento. Parte desse programa envolve o desenvolvimento do fruto, quando ocorre a montagem dos tecidos. Nesta etapa, os principais eventos metabólicos estão relacionados à divisão celular e biossíntese de componentes da parede celular. Segue-se o processo de amadurecimento, no qual predominam as reações catabólicas na parede celular. Os polímeros são degradados por hidrolases específicas, provocando mudanças expressivas na textura do fruto (ver Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento). A compreensão destes processos tem conseqüências econômicas importantes, pois a preservação dos frutos por mais tempo altera a qualidade destes como produtos e pode gerar lucro para as indústrias.

Na alimentação humana, os polissacarídeos de parede celular são genericamente chamados de fibras ou gomas, de acordo com a sua solubilidade em água e a quantidade utilizada. Dentre as fibras pode-se incluir a importante classe dos carboidratos complexos de origem vegetal que não são digeridos no intestino humano. As fibras desse tipo são grandes fragmentos de parede celular com vários polissacarídeos insolúveis associados. As gomas são polissacarídeos mais solúveis e que geram

soluções mais viscosas. Em geral são bastante enriquecidos com um polissacarídeo específico (p. ex., goma guar). Tais soluções viscosas de polissacarídeos são amplamente utilizadas como espessantes em alimentos sem promover alteração significativa no teor calórico.

As fibras alimentares possuem funções importantes não apenas na formação do bolo alimentar, mas também na modulação da absorção dos nutrientes e como elemento adsorvente para reter compostos nocivos que, desta forma, não são absorvidos pelo organismo. Também se correlacionam com a redução na incidência de câncer de intestino e até certo ponto com o controle do diabetes em pacientes não dependentes de insulina.

Em vista desses fatos, será de grande importância no futuro a capacidade de produzir raízes, frutos, sementes e folhas com a composição de fibras alterada ou mesmo introduzir genes que levem à produção de certos tipos de fibras em plantas que já são de uso consagrado na alimentação humana, mas que não as possuem em quantidade ou com estrutura conveniente.

A IMPORTÂNCIA AMBIENTAL DA PAREDE CELULAR

No momento atual, em que o planeta Terra passa por uma situação inusitada em que a emissão de combustíveis fósseis está aquecendo a atmosfera de forma anormal, os processos ligados à formação da parede celular e sua manutenção têm neste momento importância vital. Isto porque, na maioria dos tecidos vegetais, o teor de carbono é da ordem de 40-50% e a maior parte do carbono da biosfera está na parede celular vegetal. Se considerarmos ainda que as árvores, que constituem o maior estoque de carbono em seres vivos do planeta, possuem a maioria de seu carbono armazenado nas fibras mortas do xilema, desvendar os mecanismos de biossíntese dos polímeros de parede parece ser fundamental para as principais questões ambientais que se apresentam no século XXI (Buckeridge *et al.*, 2007). Ao mesmo tempo, a questão da produção de energia a partir de biomassa, notadamente a cana-de-açúcar, que é o principal fornecedor de biocombustível hoje no Brasil, também passa por questões científicas relacionadas à parede celular, pois a partir do momento em que seja possível desmontar a parede celular das diversas partes da cana que sobram como resíduo, poderemos obter quantidades muito maiores de etanol do que se obtém hoje em dia somente a partir da sacarose.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as valiosas sugestões e comentários dos colegas Adriana Grandis, Leila Mortari, Miguel José Minhoto e Simone Godoi. Marcos Buckeridge agradece o incentivo e a confiança do Prof. Gilberto B. Kerbauy, que induz, com as oportunidades dadas e com nossas discussões sobre as questões fundamentais da fisiologia vegetal, ao caminho de novas idéias.

REFERÊNCIAS

- Bonner J. Studies on the growth hormone in plants v. the relation of cell elongation to cell wall formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 20:393-397, 1934.
- Buckeridge MS. Implications of emergence, degeneracy and redundancy for the modeling of the plant cell wall. In: Takahisa Hayashi. (Org.). *The Science and the Lore of the Plant Cell Wall: Biosynthesis, Structure and Function*. Boca Raton: BrownWalker Press, p. 41-47, 2006.
- Buckeridge MS, Cavalari AA, Silva CO, Tiné MAS. Relevância dos processos de biossíntese de polissacarídeos da parede celular para a biotecnologia de frutos. In: Lajolo FM & Menezes EW (eds.). *Carbohidratos em Alimentos Regionales Iberoamericanos*. 1 ed. São Paulo: Edusp, p. 149-169, 2006.
- Buckeridge MS, Mortari LC, Machado MR. Respostas fisiológicas de plantas às mudanças climáticas: alterações no balanço de carbono nas plantas podem afetar o ecossistema? In: Rego GM, Negrelle RRB, Morellato LPC. *Fenologia — Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos* (Editores Técnicos). Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2007 (prelo).
- Buckeridge MS, Santos, HP, Tiné MAS. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38:141-156, 2000.
- Carpita NC, Gibeaut DM. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal*, 3:1-30, 1993.
- De Paula ACCFF, Sousa RV, Figueiredo-Ribeiro RCL, Buckeridge MS. Hypoglycemic activity of polysaccharide fractions containing β -glucans from extracts of *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb. Poaceae. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38:885-893, 2005.
- Dietrich SMC, Figueiredo-Ribeiro RCL, Chu EP, Buckeridge MS. Os açúcares das nossas plantas. *Ciência e Cultura* 7(39):42-48.
- Keegstra K, Talmadge K, Baurer WD, Albersheim P. Structure of the plant cell walls. *Plant Physiology*, 51:188-196, 1973.
- Harmer SL, Hogenesch JB, Straume M, Chang HS, Han B, Zhu T, Wang X, Kreps JA, Kay SA. Orchestrated transcription of key pathways in Arabidopsis by the circadian clock. *Science*, 290:2110-2113, 2000.
- Lima DU, Chaves RO, Buckeridge MS. Seed storage hemicelluloses as wet-end additives in papermaking. *Carbohydrate Polymers*, 52:367-373, 2003.
- Lima DU, Santos HP, Tiné MA, Molle FD, Buckeridge MS. Patterns of expression of cell wall related genes in sugar cane. *Genetics and Molecular Biology*, 24:191-198, 2001.
- Marques MR, Buckeridge MS, Braga MR, Dietrich SMC. Characterization of an extracellular endopolygalacturonase from saprobe *Mucor ramosissimus* Samutsevitch and its action as trigger of defensive response in tropical plants. *Mycopathologia*, 162:337-346, 2006.
- McCann MC, Roberts K. Architecture of the primary cell wall. In: *The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form* (C.W. Lloyd, ed.). London: Academic Press, pp. 109-129, 1991.
- Mayr E. (2005) *Biologia, Ciência Única: reflexões sobre a autonomia de uma disciplina científica*. Companhia das Letras, 266p.

CAPÍTULO 9

Auxinas

Helenice Mercier

INTRODUÇÃO

A auxina foi o primeiro fitormônio descoberto, e os primeiros estudos fisiológicos acerca do mecanismo de expansão celular vegetal foram focalizados na ação desse hormônio. Todas as evidências sugerem que as auxinas exercem uma importante função na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal.

As auxinas e as citocininas têm sido consideradas fitormônios vitais às plantas. Tanto que nenhum mutante verdadeiro, isto é, que não possua um dos dois hormônios, foi até hoje encontrado, sugerindo que mutações que eliminem totalmente a capacidade de produção de auxinas ou citocininas são letais. Entretanto, já foram isolados mutantes “auxina-relacionados”, os quais estão permitindo avanços consideráveis acerca do modo de ação das auxinas em vários níveis.

Este capítulo se inicia com um breve histórico sobre a descoberta das auxinas, seguido por uma descrição de suas estruturas químicas, sendo abordado mais à frente o metabolismo do ácido indolilacético (AIA), assim como o seu transporte. Serão também discutidos alguns aspectos dos efeitos fisiológicos das auxinas, mecanismos de ação e aplicações comerciais.

HISTÓRICO DA DESCOBERTA

No final do século XIX, as observações de Charles Darwin, famoso por seus estudos de evolução acerca dos movimentos das plantas, contribuíram decididamente para a descoberta das auxinas. Um dos fenômenos do crescimento vegetal por ele estudados foi o da curvatura de plântulas de gramíneas em resposta à iluminação unilateral, fenômeno esse conhecido como fototropismo (ver Cap. 16, Movimentos em Plantas). Darwin observou que coleóptilos de alpiste (*Phalaris canariensis*) respondiam à iluminação lateral crescendo em direção à fonte de luz. Entretanto, a resposta de curvatura de toda a extensão do coleóptilo não ocorria se o ápice desse órgão fosse removido ou, ainda, se fosse coberto por uma barreira de modo a não permitir a passagem da luz (Fig. 9.1). Darwin concluiu que o ápice era o ponto sensor da luz e que deveria haver algum sinal, chamado por ele de “influência transmissível”, produzido possivelmente no ápice, que seria transmitido às regiões inferiores da plântula, quando iluminada unilateralmente, causando, então, a curvatura. Após a publicação de suas idéias no livro *The Power of Movement in Plants*, em 1881, vários outros pesquisadores viriam a confirmar os resultados por ele obtidos, além de terem aprofundado suas observações.

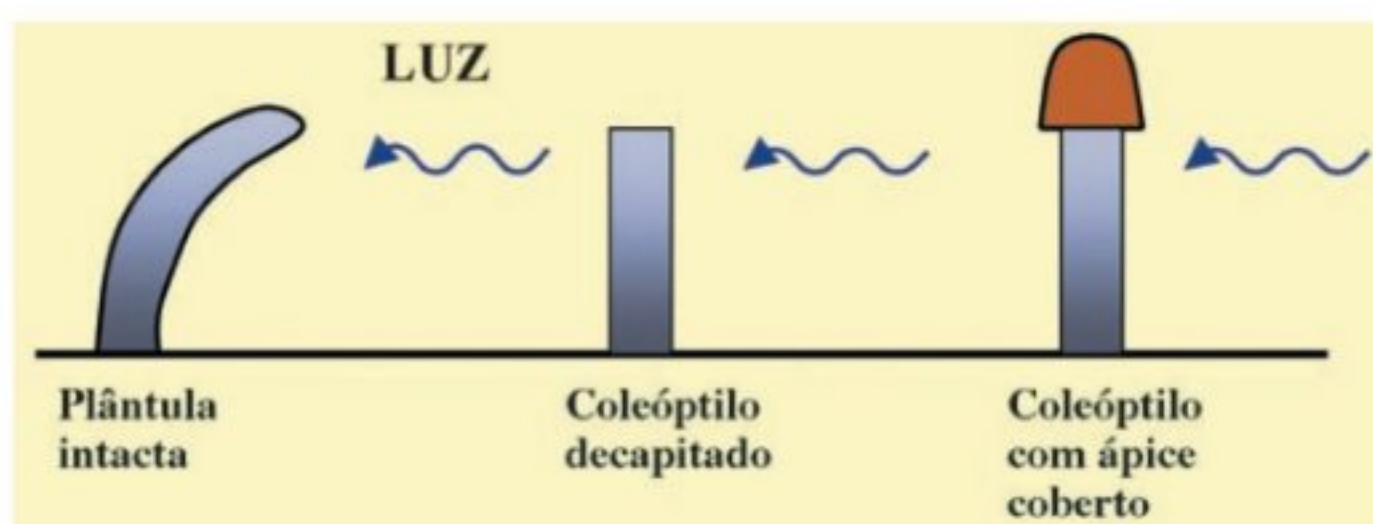


FIGURA 9.1

Experimentos fototrópicos realizados por Darwin no século XIX com coleóptilos de alpiste. Concluiu-se que um estímulo para o crescimento era produzido no ápice da coleóptilo, sendo transmitido para a zona de crescimento; quando o ápice era cortado ou coberto, não havia curvatura.

O termo auxina (do grego *auxein*, crescer ou aumentar) foi proposto por Fritz Went, o qual demonstrou, em 1926, a presença de uma substância ativa na promoção do crescimento, isto é, um composto causador da curvatura dos coleóptilos de gramíneas em direção à luz, desenvolvendo também uma técnica para quantificá-lo. A maior importância da pesquisa de Went residiu na demonstração de que a “influência transmissível”, assim chamada por Darwin, poderia difundir-se do tecido vegetal para um bloco de ágar (gelatina). Pequenas porções desse bloco poderiam, então, ser usadas para testar sua capacidade de restaurar o crescimento dos coleóptilos decapitados. Assim, esse pequeno bloco de ágar, ao ser colocado assimetricamente sobre um coleóptilo decapitado, induzia a sua curvatura para o lado oposto ao contato com o bloco, devido ao aumento na concentração de auxina que estimulou o alongamento celular do lado abaixo do bloco. Isso causava um crescimento diferencial entre os dois lados do coleóptilo, resultando em uma curvatura (Fig. 9.2). Went trabalhou com plântulas de aveia (*Avena sativa*), demonstrando que a curvatura era proporcional à quantidade da substância promotora do crescimento presente no ágar, sendo até hoje utilizado o conhecido “teste de curvatura do coleóptilo de aveia” para estimar a quantidade de auxina em uma amostra (Fig. 9.2). Essa foi a primeira vez que se empregou um bioensaio, isto é, um teste para determinar o efeito de uma substância biologicamente ativa em um material vegetal, visando à quantificação de um hormônio.

Os resultados das pesquisas de Went abriram caminhos para os estudos que se seguiriam na tentativa de isolar e identificar quimicamente as auxinas, culminando com o isolamento do ácido indolil-3-acético (AIA) em 1946, o qual foi extraído de grãos de milho imaturos. A partir de então, as pesquisas vêm demonstrando que o AIA é a principal auxina encontrada nas plantas superiores.

Atualmente, o termo auxina vem sendo empregado genericamente para descrever tanto as substâncias de ocorrência natural quanto as sintéticas que estimulam o alongamento dos coleóptilos; como veremos mais à frente, elas regulam também o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

AUXINAS NATURAIS E SINTÉTICAS

De modo geral, a auxina natural mais abundante é o AIA. Entretanto, dependendo da espécie, da idade da planta, da estação do ano e das condições sob as quais a planta se desenvolve, outras auxinas naturais podem ser encontradas, como um análogo clorado do AIA, o ácido 4-cloroindolil-3-acético (4-cloroAIA), o ácido fenilacético e o ácido indolil-3-butírico (AIB) (Fig. 9.3). Entretanto, faltam informações mais precisas a respeito da fisiologia e bioquímica desses últimos três compostos, existindo certa controvérsia se eles realmente atuam como hormônios nas plantas. Normalmente em bioensaios, essas auxinas são ativas em concentrações bem mais elevadas que o AIA, e suas funções no crescimento vegetal permanecem desconhecidas. Pesquisas recentes têm demonstrado que o AIB, além de agir como auxina, pode ser ele próprio uma forma de armazenamento de AIA, já que, por um mecanismo de oxidação que ocorre nos peroxissomos, esse composto pode converter-se em AIA livre (Bartel *et al.*, 2001).

Dentre as auxinas sintéticas (Fig. 9.4), isto é, aquelas sintetizadas em laboratórios e que causam muitas das respostas fisiológicas comuns ao AIA, encontram-se o ácido α -naftalenoacético (α -ANA), o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), o ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzóico (dicamba) e o ácido 4-amino-3,5,5-tricloropicolínico (picloram). Grande parte das auxinas sintéticas é empregada na agricultura como herbicida, sendo as mais frequentemente usadas o 2,4-D, o picloram e o dicamba (ver item neste capítulo sobre ação herbicida de auxinas sintéticas).

De um modo geral, as auxinas sintéticas são denominadas de *substâncias reguladoras do crescimento vegetal*, enquanto o emprego do termo *hormônio* ou *fitormônio* tem ficado restrito às auxinas naturais. Quimicamente, a característica que unifica todas as moléculas que expressam atividade auxínica é a existência de uma cadeia lateral ácida, a qual deve estar ligada a um anel aromático. Uma comparação entre vários compostos com atividade auxínica mostrou que, em pH neutro, eles possuem uma forte carga negativa, resultante da dissociação do próton do grupo carboxílico,

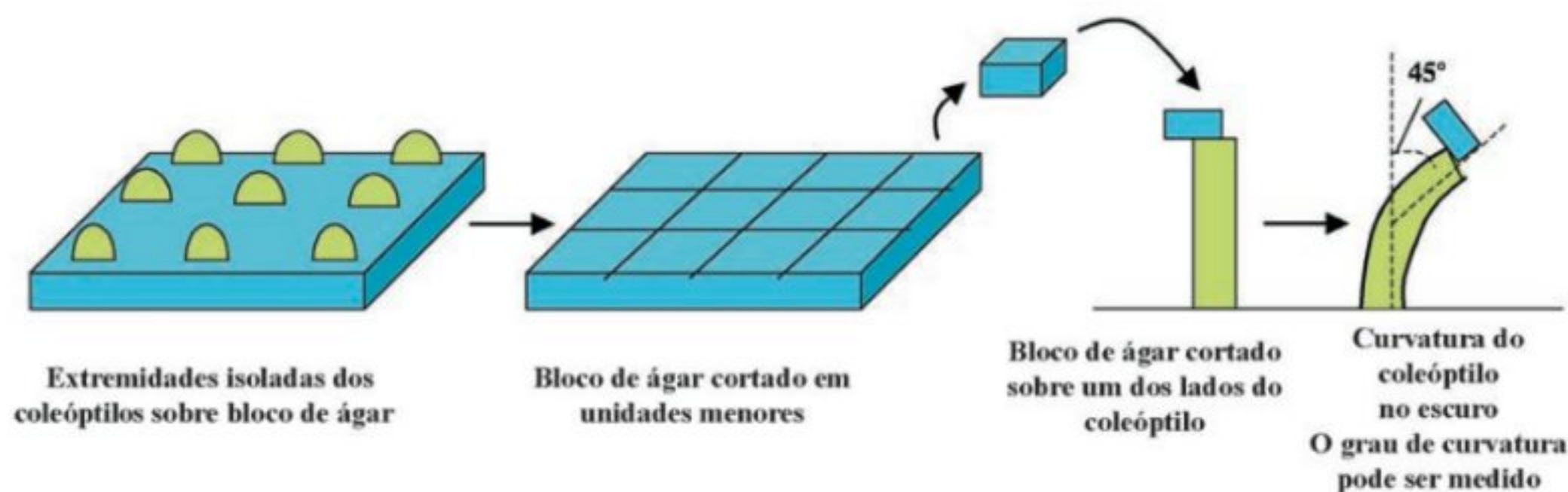
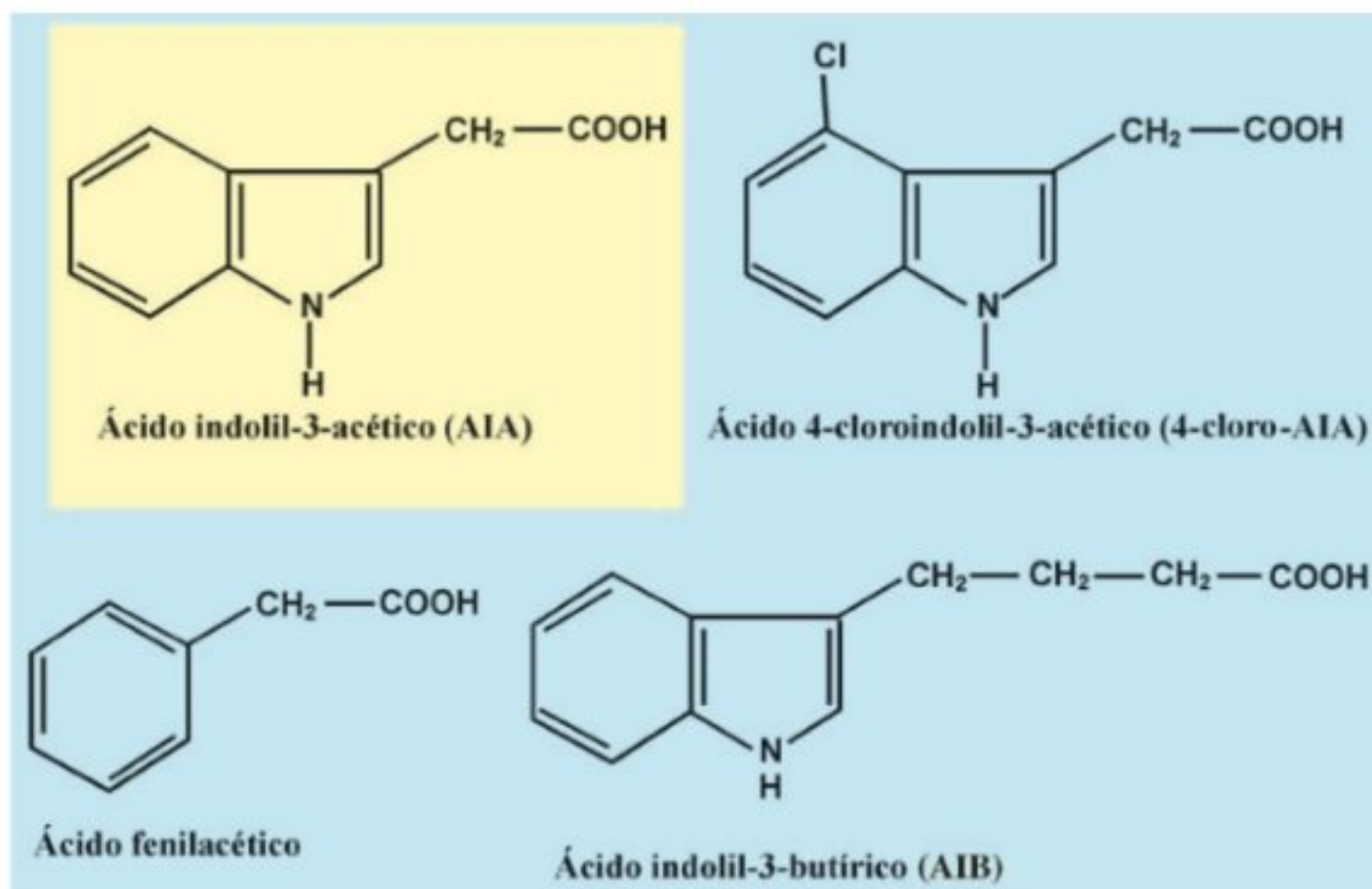


FIGURA 9.2

Experimentos realizados por Went, em 1926, com coleóptilos de aveia, onde se demonstrou a presença de uma substância promotora do crescimento, a qual era difusível em blocos de ágar e induzia a curvatura dos coleóptilos proporcionalmente à sua concentração. Esse bioensaio ficou conhecido como “teste de curvatura do coleóptilo de aveia”.

**FIGURA 9.3**

Estrutura química das principais auxinas naturais encontradas nos vegetais.

separada por uma distância de cerca de 0,5 nm, de uma carga positiva fraca proveniente do anel (Fig. 9.5). Essa separação de cargas é considerada como uma característica essencial para que um composto tenha atividade auxínica.

METABOLISMO DO AIA

Biossíntese do AIA

Em geral, a biossíntese do AIA está associada com locais de divisão celular rápida, especialmente no meristema apical caulinar, folhas jovens, frutos em desenvolvimento e em sementes. Esses locais são considerados os centros primários de produção do AIA, embora, em níveis inferiores, essa auxina possa ser também produzida em folhas maduras e, mesmo, nos ápices radiculares.

Em primórdios foliares de *Arabidopsis thaliana*, a auxina é sintetizada preferencialmente no ápice. No entanto, durante o

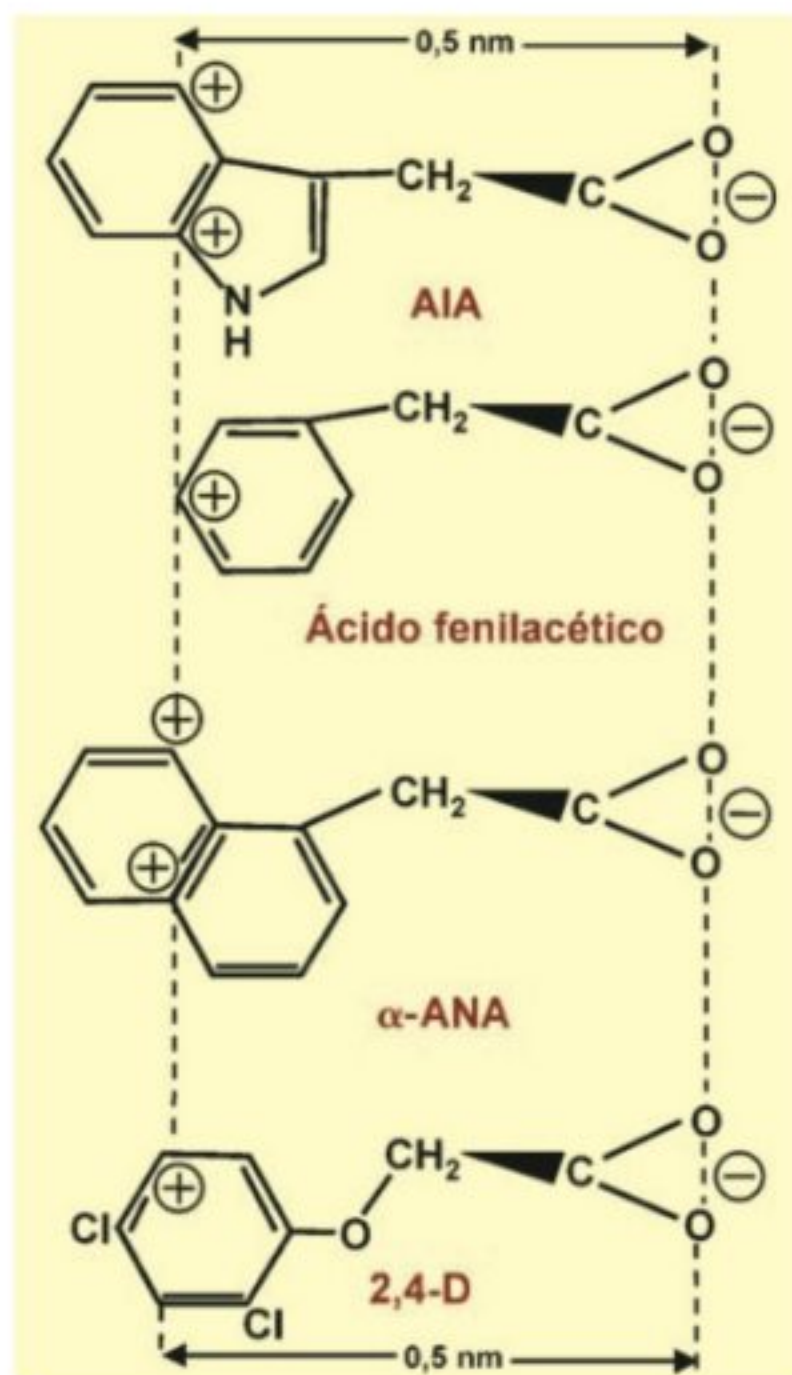
desenvolvimento dessas folhas ocorre uma mudança gradual do local de síntese, passando à região marginal e, depois, à central das lâminas. Essa progressiva alteração nos locais de produção correlaciona-se com a seqüência basípeta de maturação foliar e de diferenciação vascular.

Nas plantas superiores, as rotas bioquímicas que levam à biossíntese do AIA não estão totalmente definidas e muito menos as suas vias de regulação. Entretanto, sabe-se que existem múltiplas rotas que permitem aos vegetais sintetizar o AIA (Bartel, 1997). A aplicação de isótopos radioativos, acoplada com técnicas precisas de quantificação do AIA, como as cromatografias líquida e gasosa associadas ao imunoensaio ou à espectrometria de massa, além das disponibilidades de plantas mutantes e linhagens transgênicas com alterações no metabolismo desse hormônio, tem possibilitado um avanço considerável no conhecimento das vias biossintéticas.

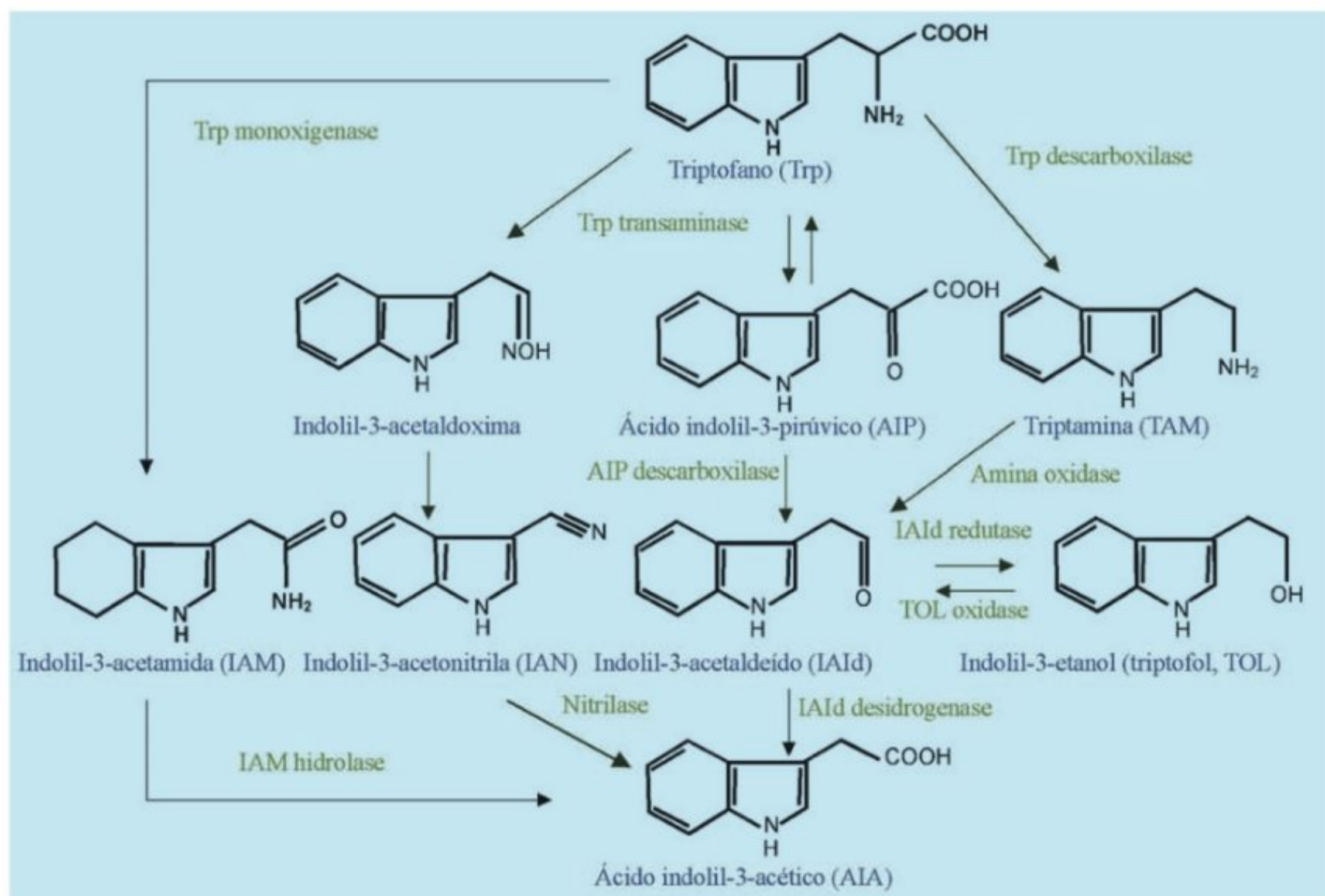
Existem muitas evidências de que o AIA é sintetizado a partir do aminoácido triptofano, possivelmente por várias rotas

FIGURA 9.4

Estrutura química de algumas auxinas sintéticas.

**FIGURA 9.5**

Formas dissociadas de auxinas mostrando a separação de 0,5 nm entre a carga negativa do grupo carboxílico e a carga positiva do anel. Essa separação de cargas é essencial para que um composto tenha atividade auxínica.

**FIGURA 9.6**

Rotas biossintéticas de AIA dependentes de triptofano.

de conversão (Fig. 9.6). Na maioria das plantas, a síntese do AIA ocorre em três etapas, iniciando-se pela conversão do triptofano em ácido indolil-3-pirúvico (AIP). O segundo passo é a descarboxilação do AIP em indolil-3-acetaldeído (IAAld) e, finalmente, a oxidação do IAAld em AIA. Há uma outra possibilidade de síntese do AIA, na qual o triptofano seria primeiramente descarboxilado em triptamina e, em seguida, esta convertida em IAAld e, depois, em AIA. Uma terceira via converteria o triptofano em indolilacetoneitrila e, então, em AIA por meio da enzima nitrilase.

Foi demonstrado, também, que a via de produção do AIA pode ocorrer independentemente desse aminoácido. Essa descoberta adveio de experimentos com plantas de milho mutantes para uma enzima que catalisa a etapa final da biossíntese do triptofano. Esse mutante necessita da adição desse aminoácido para sobreviver; entretanto, possui níveis endógenos de AIA cerca de 50 vezes superiores àqueles encontrados nas plantas selvagens.

Tanto a rota dependente quanto a independente de triptofano permanecem muito pouco definidas em termos enzimáticos, de intermediários e de localização celular. Há evidências indicando que certas fases do desenvolvimento vegetal, as quais necessitam temporariamente de elevadas concentrações de AIA livre, ativam a rota de síntese dependente de triptofano, como, por exemplo, durante o início da embriogênese ou da germinação de sementes, enquanto a via independente desse aminoácido predominaria durante o crescimento vegetativo (Normanly & Bartel, 1999). Caracteriza-se, portanto, uma regulação das vias de biossíntese em resposta a diferentes estágios do desenvolvimento vegetal.

As plantas possuem mecanismos de controle do nível celular de AIA livre, regulando a taxa de síntese ou controlando a transformação do AIA em formas conjugadas, as quais são consideradas formas temporariamente inativas. Além desses mecanismos, existe ainda o processo irreversível de degradação por oxidação. A compartimentalização nos cloroplastos e o transporte também devem ser considerados como formas de regulação dos níveis de AIA livre em determinada célula (Fig. 9.7).

Conjugação do AIA

Embora o AIA livre seja a forma biologicamente ativa, a maior parte do conteúdo de auxinas presente num vegetal encontra-se na forma conjugada. Nesse caso, a auxina possui o grupo carboxílico da forma livre combinada covalentemente com outras moléculas. Vários conjugados do AIA são conhecidos, como AIA-glicose, AIA-inositol e AIA-aspartato (Fig. 9.8). No primeiro exemplo, o AIA conjuga-se com um açúcar (ligação éster) e, no último, com um aminoácido (ligação amida).

Em geral, as plantas podem reverter as formas conjugadas em formas livres, por meio da ação de enzimas hidrolíticas. O sistema mais bem investigado é o de grãos de milho (*Zea mays*) em germinação. Verificou-se que o conjugado mais abundante encontrado no endosperma de *Zea mays* é o AIA-inositol, o qual representa uma importante fonte de AIA livre para o crescimento do eixo caulinar da plântula em formação. Além da função de armazenamento de AIA no grão, o AIA-inositol é também a forma de transporte do endosperma para a plântula. No ápice do coleóptilo, o AIA-inositol é hidrolisado, sendo a forma livre transportada para as regiões mais basais do eixo caulinar do vegetal em crescimento.

Os conjugados de AIA são biologicamente ativos quando empregados em cultura de tecidos ou em bioensaios, sugerindo que essa atividade esteja diretamente correlacionada com a quantidade de AIA livre liberada após a hidrólise da forma conjugada no tecido vegetal. Em plantas cultivadas *in vitro*, por exemplo, foi observado que certos conjugados facilitam o crescimento da parte aérea mas não o de raízes, enquanto outros têm um efeito oposto. Tal fato se deve à capacidade de formação de AIA-livre por meio de enzimas hidrolíticas, as quais têm especificidade, atividade e localização diferenciais nos tecidos vegetais. A atividade biológica em si é devida à porção correspondente à molécula de AIA, e não ao tipo de molécula conjugada. Assim, a regulação tanto da formação de conjugados quanto de sua hidrólise é uma importante ferramenta no controle dos níveis de AIA livre presentes nas plantas. Somam-se a isso outras funções, como a estocagem e a proteção contra a degradação.

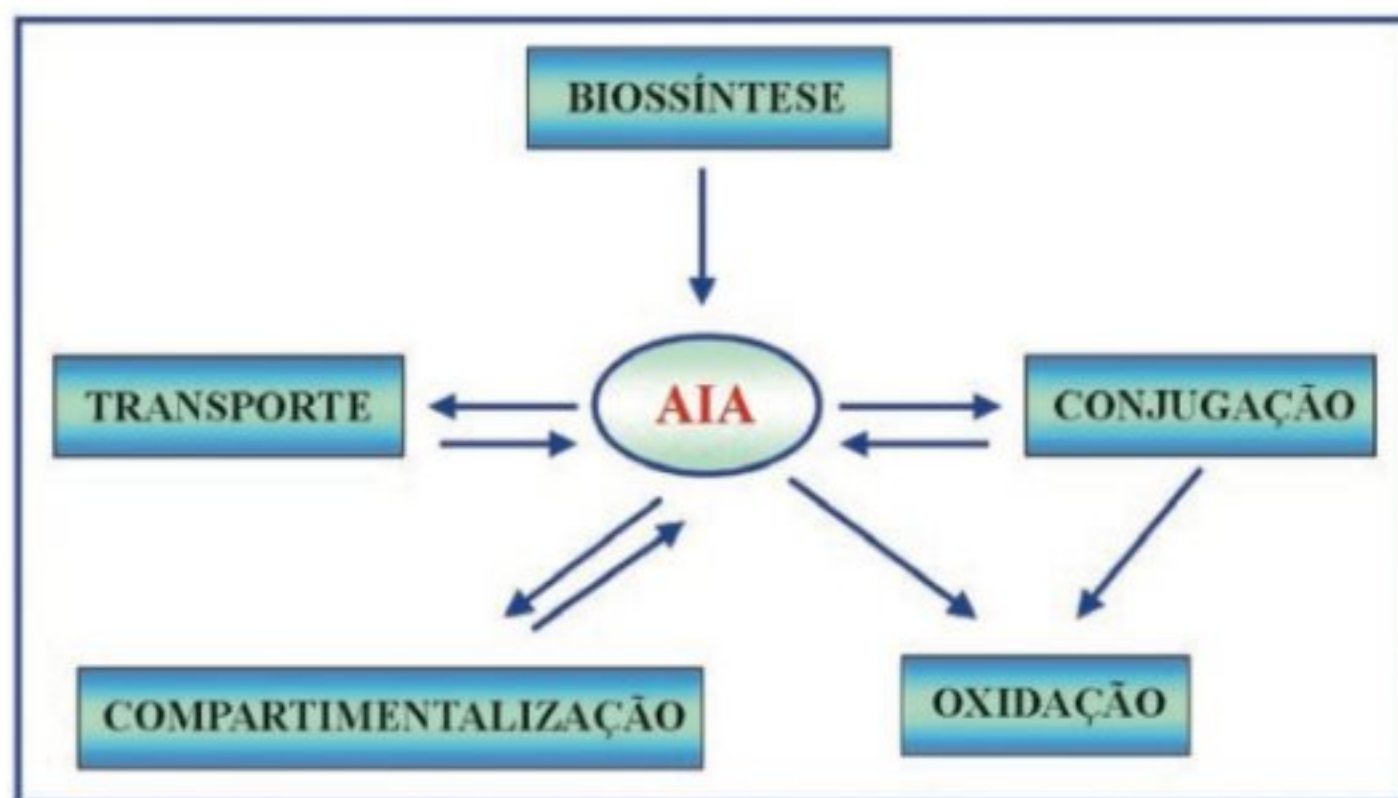


FIGURA 9.7

Mecanismos reguladores dos níveis de AIA livre nas células vegetais.

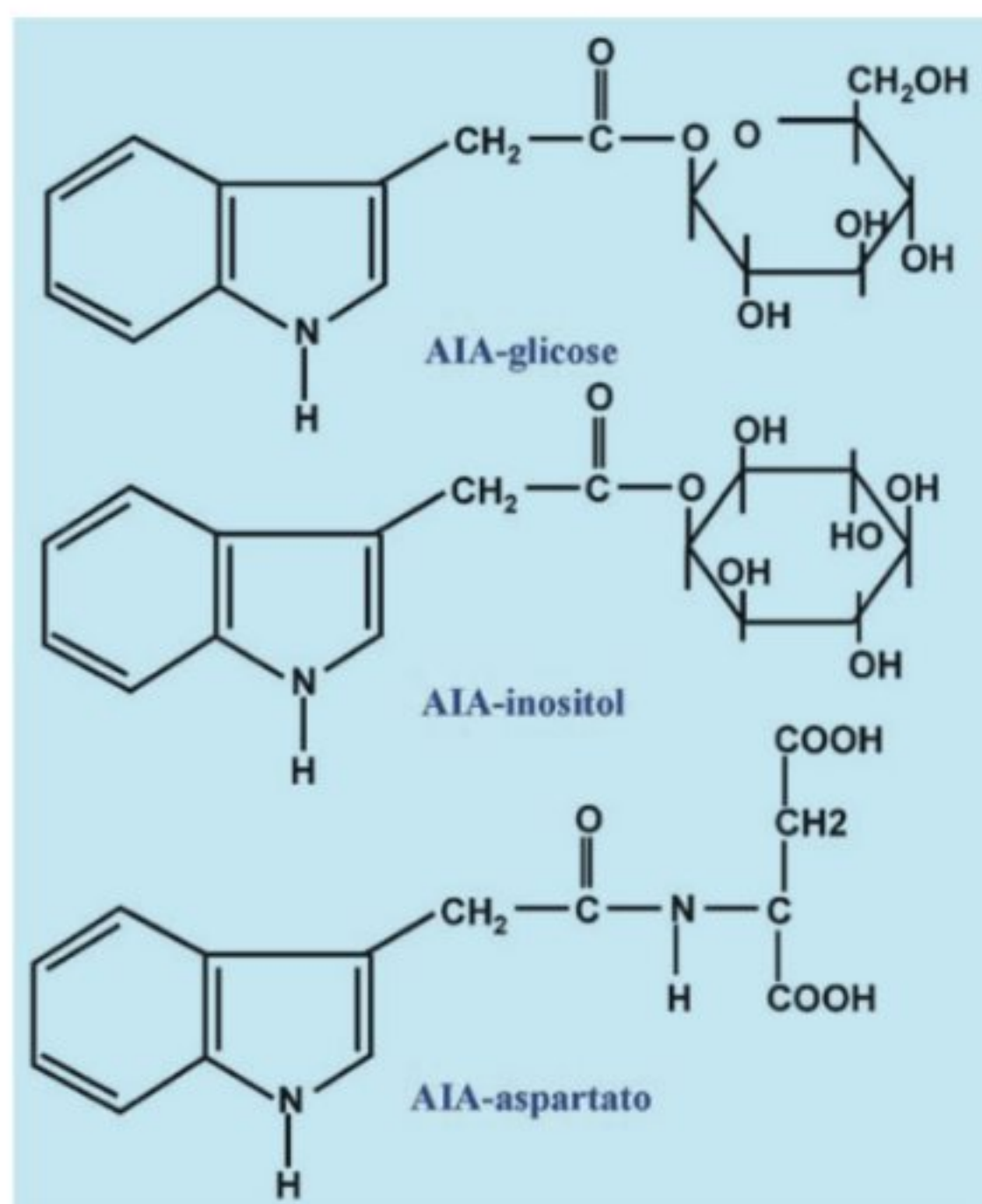


FIGURA 9.8

Estrutura química de três auxinas conjugadas.

Degradação do AIA

O AIA, quando em solução aquosa (*in vitro*), é degradado por uma variedade de agentes, que incluem: a luz visível, ácidos, radiações ultravioleta e ionizante. No primeiro caso, a fotodestruição pode ser aumentada pela presença de pigmentos vegetais como a riboflavina.

Nos tecidos vegetais, o AIA é inativado imediatamente após ou concomitantemente com a ação promotora do crescimento. Sua degradação se faz por meio da oxidação, que pode ocorrer tanto na cadeia lateral (com descarboxilação) quanto no anel indólico (sem descarboxilação) (Fig. 9.9).

A descarboxilação oxidativa do AIA é catalisada por enzimas do tipo peroxidase (via das peroxidases) (Fig. 9.9A), também chamadas de AIA-oxidases, as quais existem em numerosas formas isoenzimáticas nas plantas. Entretanto, o significado fisiológico dessa via não se encontra ainda bem estabelecido. Certas plantas transgênicas com superexpressão de genes para a síntese de peroxidases não apresentaram alterações significativas nos níveis de AIA. Nem mesmo mutantes com diminuição de até 10 vezes na atividade peroxidásica apresentaram alterações no conteúdo de AIA.

As auxinas sintéticas e as formas conjugadas de AIA não são desativadas pelas peroxidases, persistindo por mais tempo nas plantas em comparação com o AIA. Por esse motivo, também se atribui à conjugação do AIA a função de proteção contra a degradação.

A oxidação do anel indólico é um segundo caminho de degradação do AIA, sendo atualmente considerada a rota mais importante de degradação do AIA (via não-descarboxilativa) (Fig. 9.9B). A atividade enzimática envolvida nesse processo é ainda pouco conhecida. O produto final do catabolismo do AIA é o ácido oxindol-3-acético (AIA-Ox). Foi demonstrado para várias plantas que, por essa via, há a necessidade de ocorrer primeiro a conversão do AIA em sua forma conjugada com o aminoácido aspartato (AIA-aspartato), para, então, desencadear o processo irreversível de catabolismo não-descarboxilativo. Assim, o AIA-aspartato parece ter uma função específica de marcar o AIA disponível para a degradação.

Um esquema simplificado das possíveis rotas de síntese, conjugação e degradação do AIA é apresentado na Fig. 9.10. Nela estão indicadas a síntese *de novo* pelas vias dependente e independente de triptofano (indol); a β -oxidação do AIB e a hidrólise de formas conjugadas, aumentando o nível de AIA livre e a degradação do AIA por oxidação. As sínteses de conjugados hidrolisáveis e de AIB podem também contribuir para a redução dos níveis de AIA, assim como a oxidação.

TRANSPORTE POLAR DAS AUXINAS

O transporte de auxinas tem uma importância fundamental no crescimento e desenvolvimento dos vegetais, agindo como um fator determinante nos processos de expansão/alongamento celular, nos movimentos trópicos, na divisão das células, na diferenciação vascular, na dominância apical, na senescência e abscisão. Cada um desses tópicos será discutido mais adiante neste capítulo.

As auxinas são os únicos fitormônios transportados polarmente, isto é, o transporte se faz unidirecionalmente, ocorrendo do ápice para a base das plantas. No entanto, existe também um transporte apolar através do floema, como, por exemplo, em folhas maduras, onde a maior parte do AIA aí sintetizado pode ser transportada para as demais partes da planta.

Nos estudos para quantificar o transporte polar das auxinas, empregou-se o método dos blocos de ágar doador e receptor, conforme indicado na Fig. 9.11. Um bloco de ágar contendo auxina marcada radioativamente (bloco doador) é colocado em uma das extremidades de um segmento caulinar ou de hipocótilo, e um bloco receptor é colocado na extremidade oposta. A efetividade do movimento da auxina através do tecido vegetal em direção ao bloco receptor pode ser determinada através do tempo, medindo-se a radioatividade presente nesse bloco receptor. A partir de vários ensaios, usando esse tipo de método, as propriedades do transporte polar das auxinas puderam ser estabelecidas. Em coleótilos e em ramos vegetativos, o transporte basípeto predomina (Fig. 9.11). O principal local por onde se dá o transporte basípeto em caules e folhas é o parênquima vascular.

Nas raízes, o transporte da base para o ápice (movimento acrópeto) ocorre através do parênquima xilemático e do periciclo; entretanto, a principal via de acesso desse fitormônio ao ápice

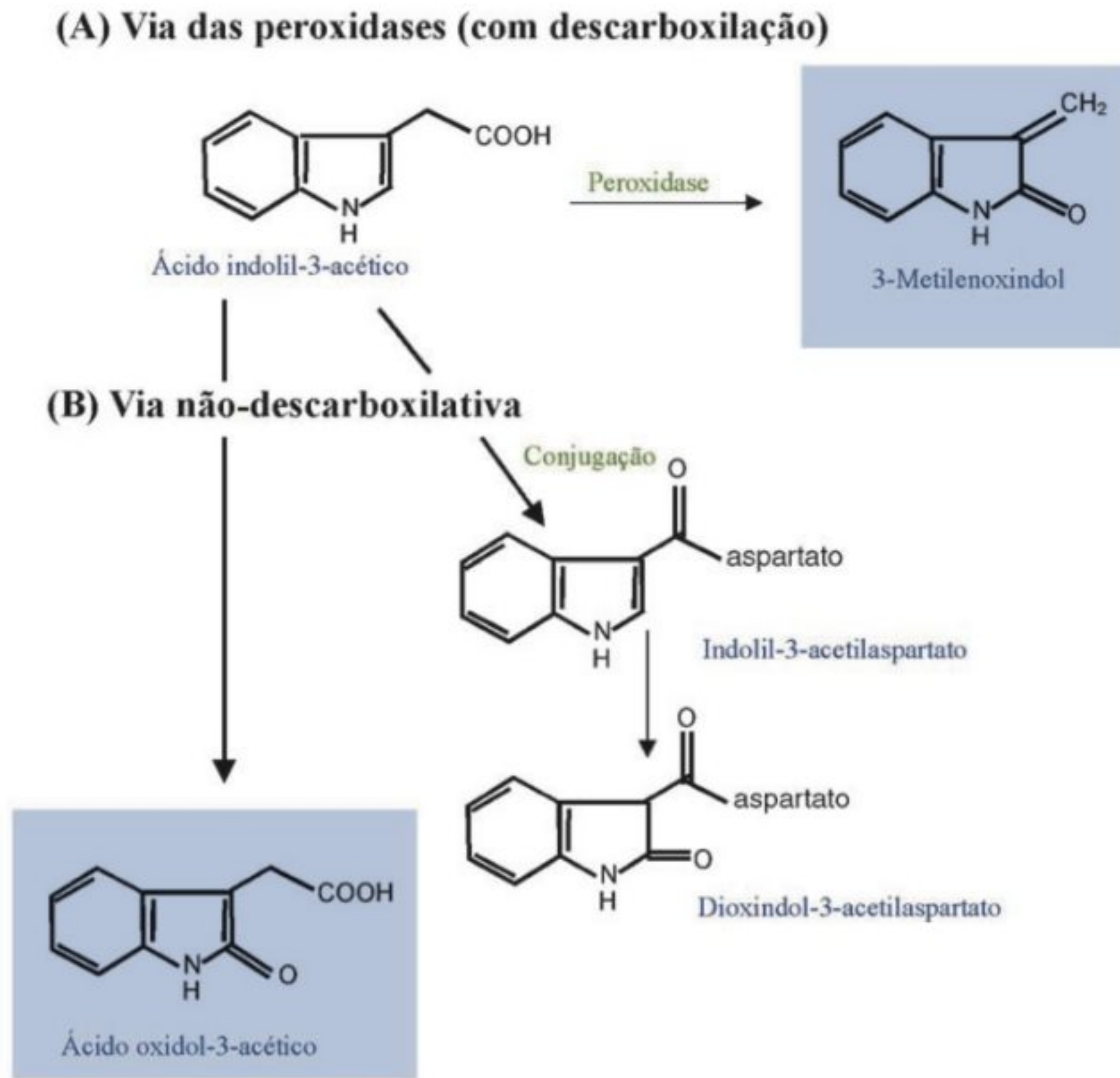


FIGURA 9.9

Rotas de degradação do AIA: (A) via das peroxidases ou descarboxilativa; (B) via não-descarboxilativa. Esta última é de ocorrência mais freqüente nas plantas.

radicular faz-se por meio do tecido floemático. Uma pequena quantidade da auxina que alcança o ápice da raiz é redistribuída para as células do córtex e da epiderme, sendo assim transportada de volta à região basal (movimento basípeto radicular) até a zona

de alongamento, onde o AIA, em baixas concentrações, regula o alongamento das células radiculares (Fig. 9.12).

O movimento polar da auxina ocorre célula a célula, em vez de se valer dos plasmodesmas, ou seja, do simplasto celular. Assim, o AIA deixa a célula através da membrana plasmática de uma célula, difundindo-se para as paredes primárias próximas e passando destas para a célula imediatamente abaixo, através da membrana plasmática.

De acordo com a teoria mais antiga sobre o transporte de auxinas, estas se moveriam no citoplasma celular, onde seriam secretadas ativamente por meio de carregadores presentes no lado basal de cada célula. Na década de 1970, um novo modelo sobre o transporte polar das auxinas foi proposto, sendo conhecido como transporte quimiosmótico da auxina.

Teoria quimiosmótica

De acordo com essa teoria, tanto a entrada de AIA nas células quanto a sua saída seriam processos passivos, dependentes de um gradiente eletroquímico favorável encontrado entre o apoplasto (parede celular) e o citoplasma celular (Fig. 9.13). O AIA é caracterizado por ser um ácido fraco, lipofílico. Depen-

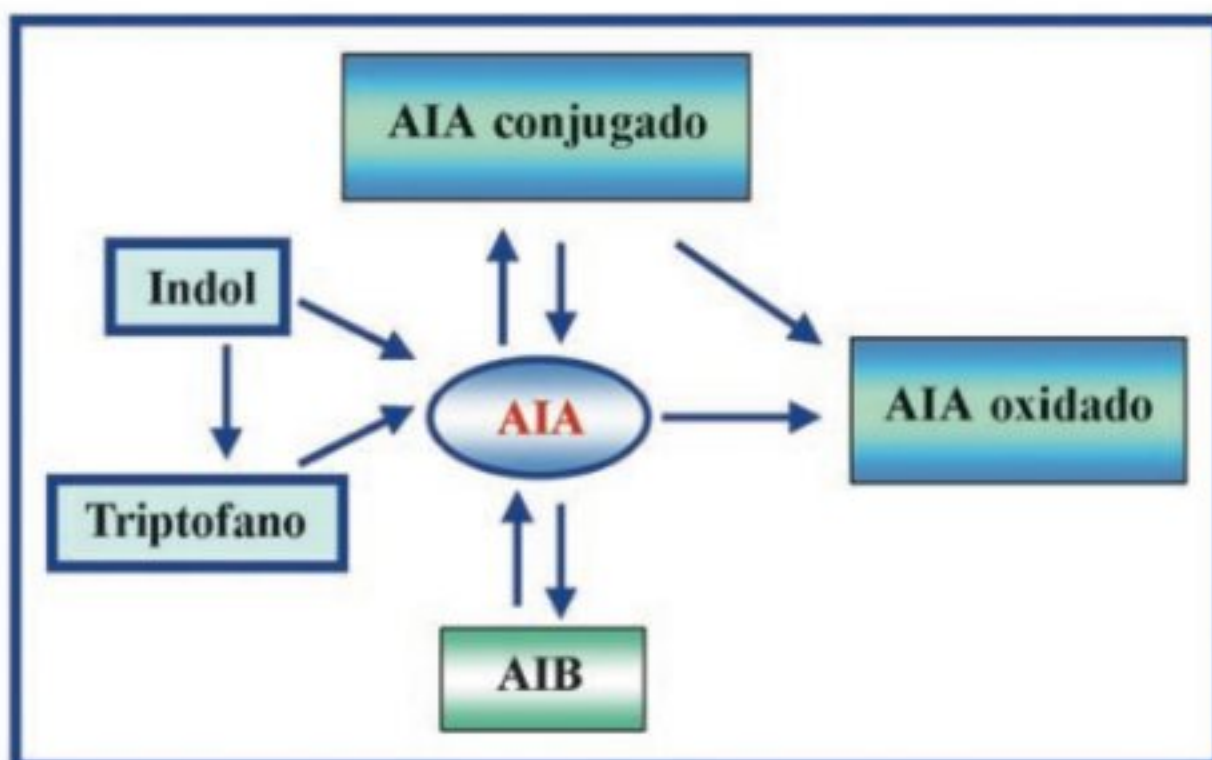
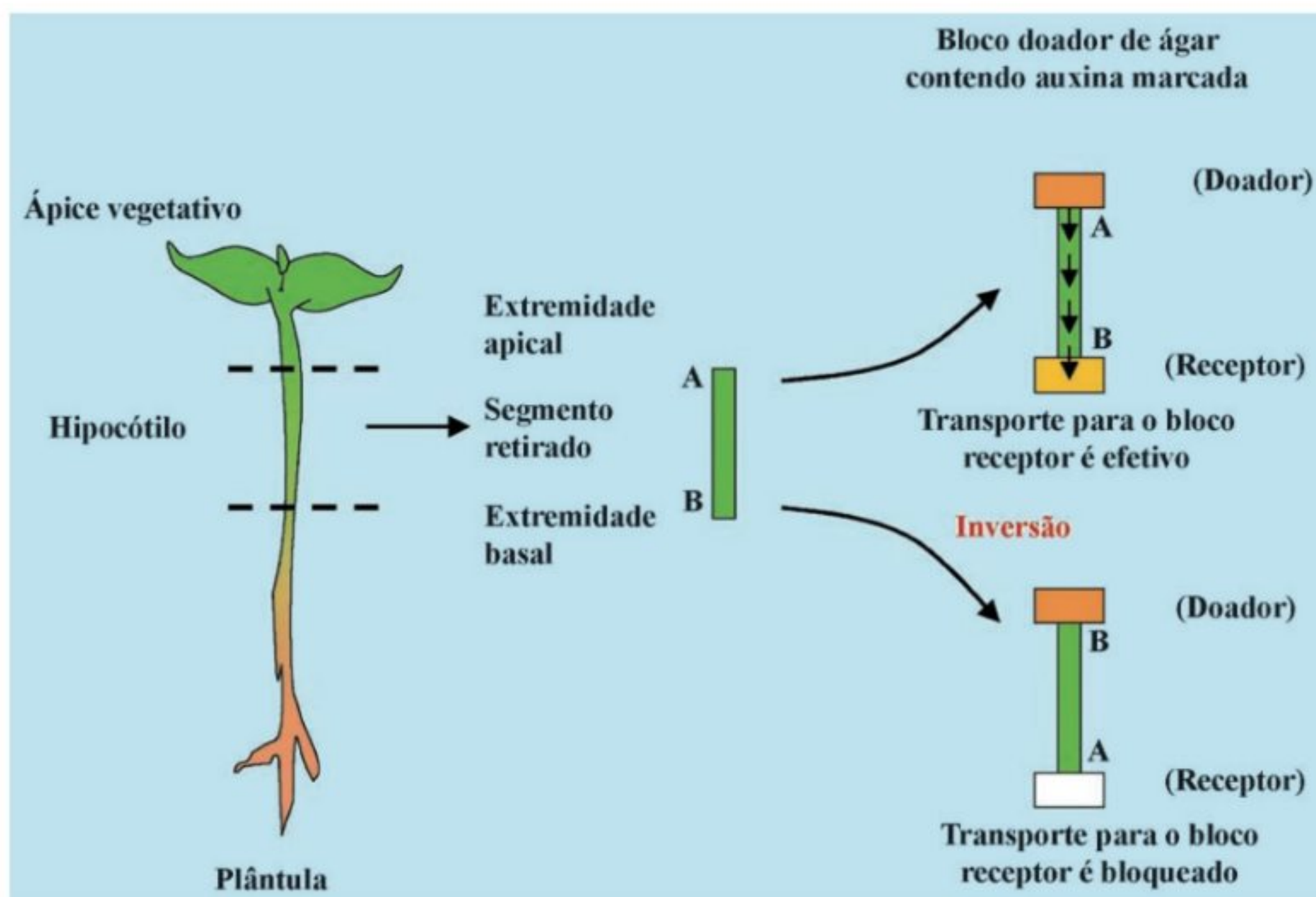


FIGURA 9.10

Esquema simplificado das possíveis rotas de síntese, conjugação e degradação do AIA.

**FIGURA 9.11**

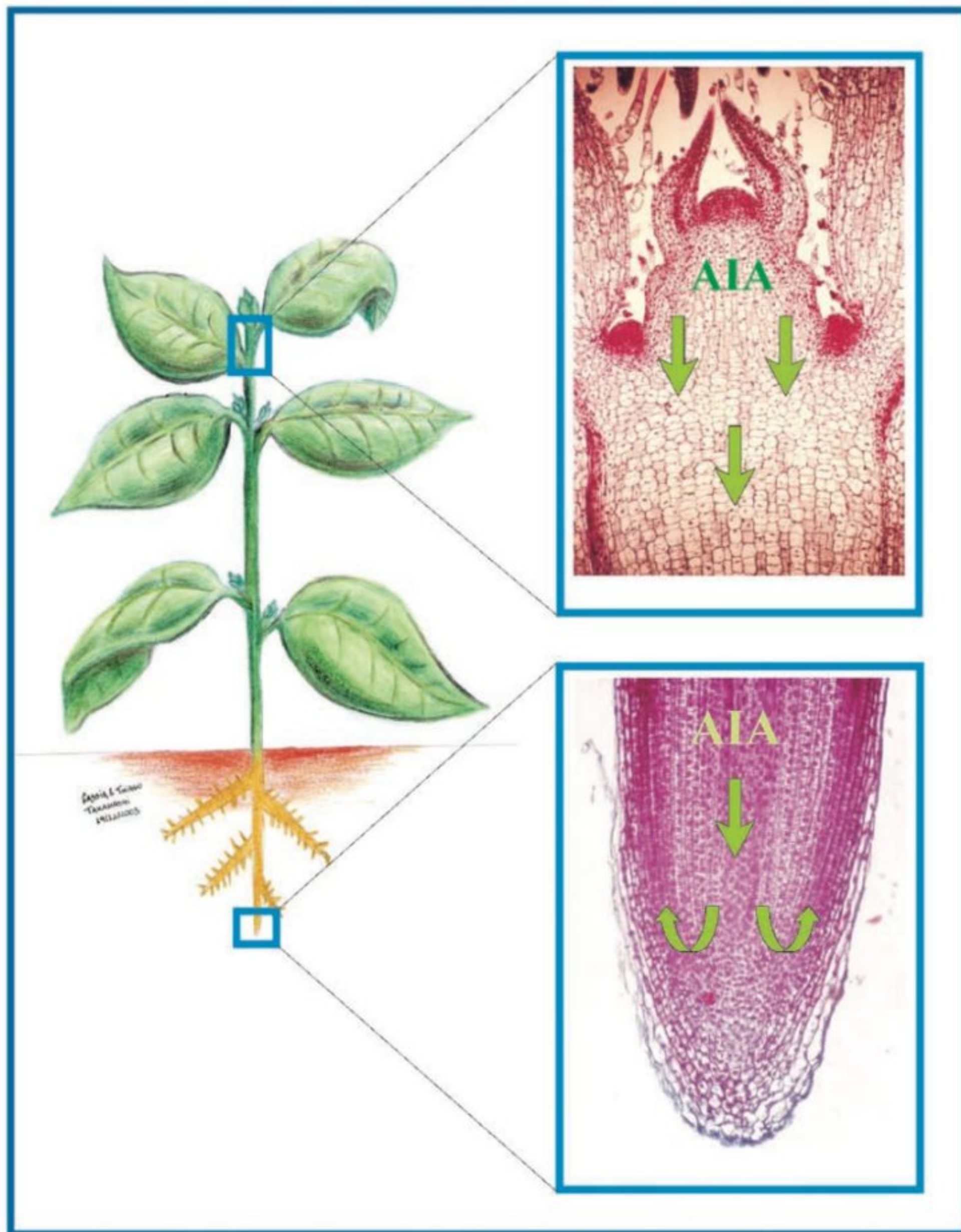
Esquema do ensaio dos blocos de ágar doador e receptor para quantificar o transporte polar da auxina em caule jovem.

dendo do pH do meio, o AIA pode existir sob duas formas: a protonada (AIA-H) e a forma aniônica, esta portanto dissociada (AIA⁻). O apoplasto é moderadamente ácido, com pH em torno de 5,0. Nessa condição, a forma AIA-H predomina. Essa forma é mais lipossolúvel que a forma aniônica, penetrando mais facilmente através da membrana plasmática. Assim, o AIA-H presente nos espaços da parede celular difundir-se-á a favor de seu gradiente de concentração, entrando na célula. Uma vez no citoplasma, onde o pH se encontra em torno de 7,0, o AIA-H irá dissociar-se em AIA⁻ e H⁺. A diferença de pH verificada entre o apoplasto e o citoplasma serve para manter o gradiente de concentração de AIA-H, estimulando a entrada contínua de AIA-H na célula. A forma dissociada acumula-se intracelularmente, já que esta não se difunde facilmente pela membrana.

A saída do AIA⁻ é favorecida pelo potencial de membrana normal (lado de fora positivo) através da membrana plasmática, alcançando, então, a parede celular, onde o AIA⁻ é novamente protonado, formando AIA-H. Essa forma difunde-se através dos espaços presentes na parede celular, entrando na célula subjacente onde se difunde ou é carregado pela corrente citoplasmática para a porção basal celular. A teoria quimiosmótica previa a possibilidade de haver transportadores de saída de AIA⁻, os quais se localizariam especificamente na região basal. Dessa forma, haveria um movimento basípeto preferencial através de uma coluna de células (Fig. 9.13).

Bombas de prótons (ATPases), localizadas na membrana plasmática, operam no sentido de prevenir a acumulação de íons H⁺ no citoplasma, mantendo tanto certo grau de acidez no apoplasto quanto um potencial de membrana favorável (Fig. 9.13).

Evidências mais recentes, advindas de pesquisas na área da biologia molecular, confirmaram a previsão da existência de transportadores de AIA presentes na membrana plasmática, proposta pela teoria quimiosmótica. A partir da seleção de mutantes de *Arabidopsis thaliana*, apresentando fenótipos alterados, como, por exemplo, raízes agravitrópicas ou com reduzido transporte polar de auxinas, foi possível clonar certos genes que codificam proteínas com função transportadora. Tanto a entrada de AIA-H quanto a saída de AIA⁻ são mediadas por proteínas transportadoras. Portanto, atualmente, sabe-se que a auxina pode entrar nas células a partir de qualquer direção por meio de dois mecanismos: (1) difusão passiva da forma protonada (AIA-H) e (2) através de proteínas transportadoras da forma protonada (AIA-H) que utilizam um mecanismo de co-transporte do tipo simporte de H⁺-AIAH. Estudos com *Arabidopsis thaliana* mostraram que o gene *aux1* codifica uma proteína (AUX1) que funciona como carregadora de auxina e prótons. Quanto à saída de AIA, a forma dissociada deixa a célula através de proteínas transportadoras, que estão localizadas exclusivamente na região basal das células (Fig. 9.14). Em *Arabidopsis thaliana*, esses transportadores foram bem caracterizados, sendo conhecidos como proteínas PIN (do inglês *pin-shaped inflorescences*). Dessa maneira, a direção do

**FIGURA 9.12**

Esquema de uma planta mostrando a chegada de AIA na raiz pelo cilindro vascular (transporte acrópeto) e sua redistribuição parcial pelo córtex e epiderme (transporte basípeto), atingindo a região de alongamento radicular.

movimento da auxina é dada pelo posicionamento basal desses transportadores de saída da membrana plasmática. A repetição da absorção da auxina na porção apical de uma célula com sua liberação na região basal estabelece um *continuum* no vegetal, originando o efeito do transporte polar como um todo.

Recentemente foi demonstrado que as proteínas PIN, embora estáveis, não permanecem fixas na membrana plasmática. Ao contrário, elas podem ciclar rapidamente para um compartimento

intracelular (endossomo), voltando depois para a membrana plasmática da região basal. Esse movimento cíclico é dirigido por um citoesqueleto de actina que controla o transporte das proteínas PIN, localizando a fixação transitória e assimétrica dessas proteínas na membrana (Fig. 9.15). Especula-se que, por meio desse mecanismo, a redistribuição desses transportadores para uma nova membrana possa ocorrer quando o transporte polar da auxina for alterado por estímulos ambientais, como pela luz ou

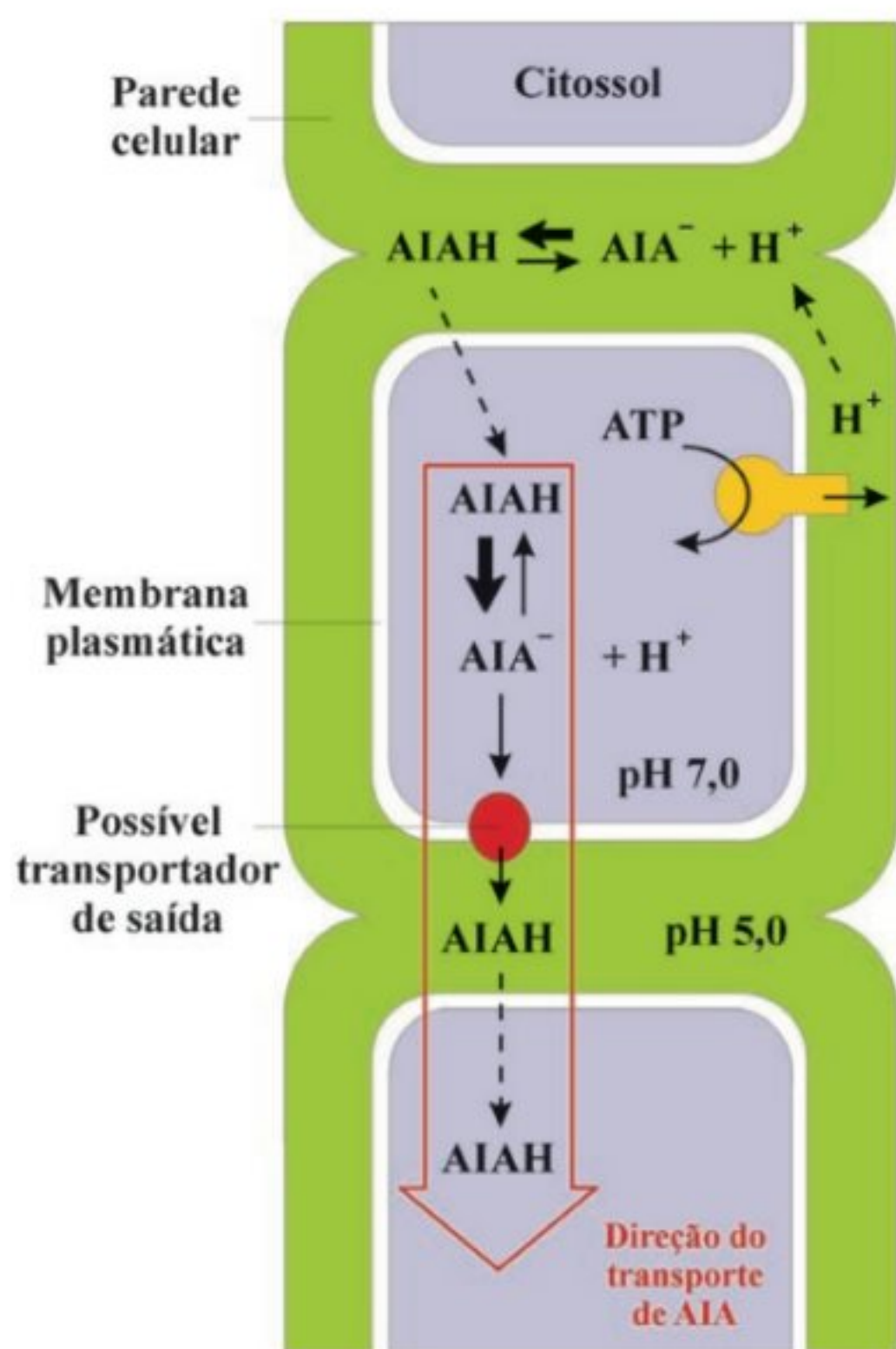


FIGURA 9.13

Hipótese quimiosmótica para o transporte polar da auxina.

gravidade, os quais causam um crescimento diferencial: fototropismo e gravitropismo, respectivamente (Muday, 2002).

O transporte polar da auxina pode ser interrompido por meio do emprego de certas substâncias inibidoras desse transporte, como o ácido naftilftalâmico (conhecido como NPA) e o ácido

triodobenzóico (conhecido como TIBA). Esses compostos inibem o transporte polar bloqueando a saída de auxinas das células, ligando-se aos transportadores de saída (complexo protéico PIN). Foi demonstrado experimentalmente que, quando segmentos caulinares ou de hipocótilos são incubados em soluções que contenham um desses inibidores e mais auxina marcada radioativamente (^{14}C -AIA), há um acúmulo desse hormônio intracelularmente, sugerindo que a entrada de AIA não é afetada, mas somente a sua saída.

EFEITOS FISIOLÓGICOS DAS AUXINAS

Divisão, crescimento e diferenciação celular

DIVISÃO CELULAR

O estabelecimento da arquitetura da planta e das diferentes funções das células vegetais depende da capacidade da célula de se dividir e diferenciar. A maior parte da atividade de divisão celular nas plantas está localizada em pequenos grupos de células, que formam os meristemas. Esses tecidos já estão presentes no embrião e são ativos, ou potencialmente ativos, durante a maior parte da vida das plantas. A “decisão” de uma célula individual de se dividir (entrar no ciclo celular), permanecer em repouso (G_0) ou então se diferenciar depende da presença e da capacidade de percepção a vários sinais, dentre eles os níveis hormonais, nutrientes, luz, temperatura etc. (Fig. 9.16A).

O ciclo de divisão celular consiste em uma série de alternância de fases, como a replicação do DNA (fase S), a separação cromossômica (fase M ou mitose), intercaladas por intervalos entre M e S (G_1) e entre S e M (G_2). Pontos importantes de controle operam nas transições de G_1 para S e de G_2 para M, os quais são exercidos primariamente por meio da regulação da atividade de

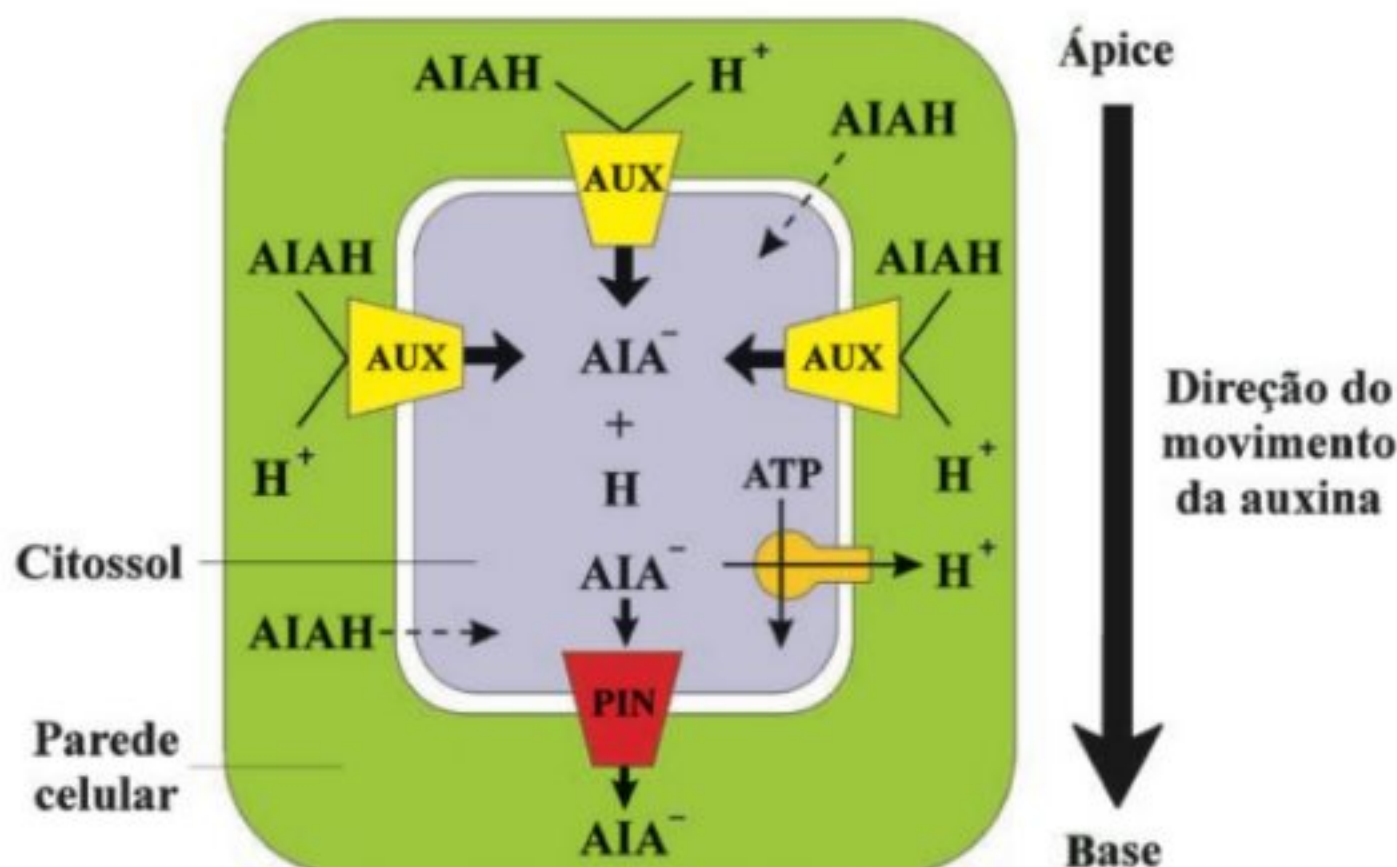
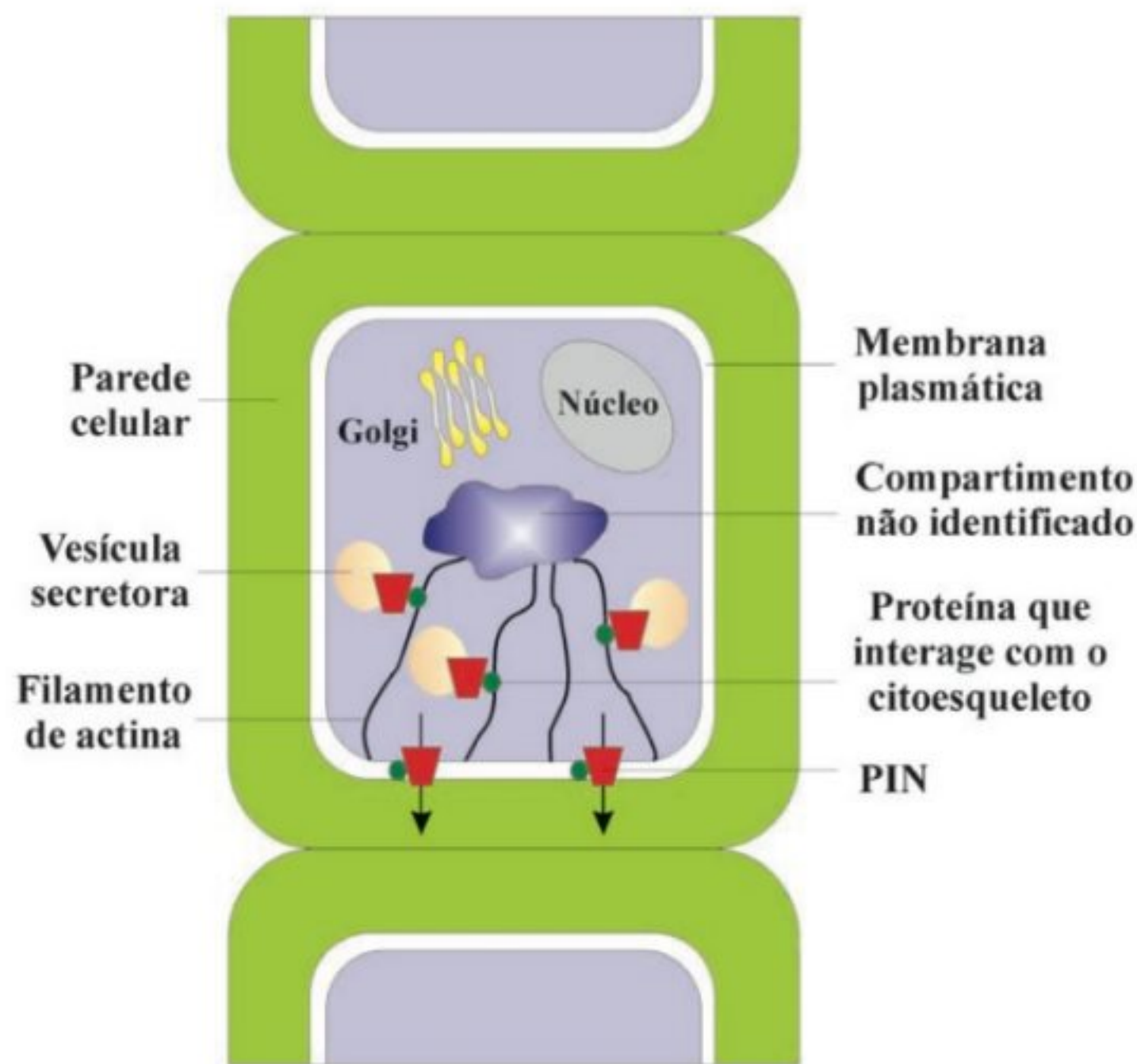


FIGURA 9.14

Mecanismo celular de transporte de auxina.

**FIGURA 9.15**

Movimento das proteínas transportadoras de saída de AIA (PIN) por meio de filamentos de actina que direcionam o transporte de vesículas secretoras até a membrana plasmática a partir de um compartimento interno e também no sentido inverso.

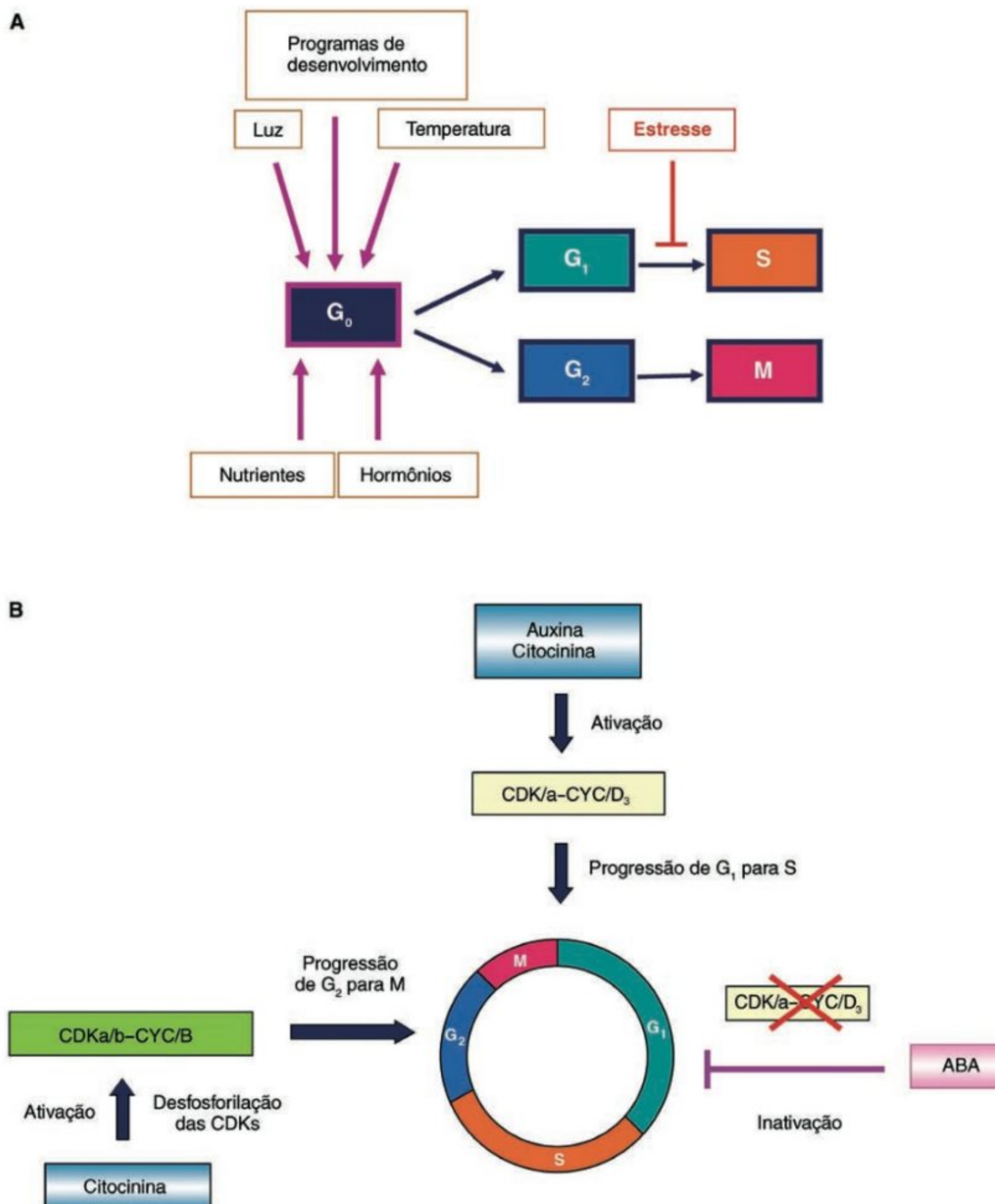
certas proteínas, particularmente das cinases dependentes de ciclina (CDKs, do inglês *cyclin-dependent protein kinases*) (Fig. 9.16B). Apenas para efeito didático, é conveniente lembrar que as cinases são enzimas responsáveis pela fosforilação (adição de fósforo) de moléculas biologicamente importantes. Nos vegetais, dois grupos de hormônios, as auxinas e as citocininas, estimulam a proliferação da grande maioria de tipos de células. Muitos tecidos, como os de folha, raiz ou caule, ao serem cultivados *in vitro*, na presença desses dois hormônios em concentrações apropriadas, podem formar massas celulares, chamadas de calos, gemas ou raízes. A necessidade de uma auxina e uma citocinina na indução e manutenção da divisão celular é conhecida há muito tempo (ver Cap. 10, Citocininas). Mas em que nível da regulação do ciclo celular esses fitormônios agem? Progressos obtidos com o cultivo *in vitro* de células de medula de tabaco mostraram que a auxina, quando presente isoladamente no meio de cultura, aumentava o nível de uma proteína cinase dependente de ciclina. A adição de citocinina era necessária, entretanto, para a ativação dessa cinase. Mais recentemente, determinou-se que, na transição de G_1 para S, a auxina aumenta o conteúdo da cinase dependente de ciclina do tipo a (CDK/a), a qual, por seu lado, precisa ser ativada por uma ciclina específica, a do tipo D_3 (CYC/ D_3 , do inglês *cyclin D₃*). Por sua vez, o nível da ciclina D_3 é modulado por citocinina. Somente a partir da formação do complexo ativo CDK/a–CYC/ D_3 , a célula adquire capacidade para progredir no ciclo, passando para a fase seguinte, isto é, iniciação da síntese de DNA (Boer *et al.*, 2000) (Fig. 9.16B). As plantas também possuem proteínas que podem

inibir o complexo CDK/a–CYC/ D_3 . Em resposta a uma variação ambiental que provoque um estresse nas plantas, mediado pela sinalização do ácido abscísico (ABA), essas proteínas inibidoras têm sua síntese aumentada, interrompendo o ciclo celular na passagem de G_1 para S (Fig. 9.16B).

Além das cinases do tipo a, as plantas possuem uma outra classe de CDK, conhecida por CDK/b, que se acumula na transição de G_2 para M, sendo ela essencial à regulação dessa transição (Inzé, 2005). Note que a classe CDK/a exerce seu papel de controle do ciclo em ambas as transições G_1/S e G_2/M . A progressão de fase de S para a mitose propriamente dita (fase M) depende também do aparecimento de uma ciclina específica, a do tipo B (CYC/B). Ainda, para que os complexos CDK/a/b–CYC/B, típicos de G_2/M , sejam ativados, uma fosfatase (enzima responsável pela retirada de fósforo de moléculas), induzível por citocininas, deve desfosforilar essas cinases (CDK/a/b) (Fig. 9.16B).

EXPANSÃO/ALONGAMENTO CELULAR

O crescimento em tamanho da célula vegetal não-meristemática é caracterizado por um aumento irreversível de seu volume, o qual pode ocorrer por expansão, isto é, um aumento de tamanho em duas ou três dimensões ou por alongamento, que representaria um tipo de expansão que ocorre exclusivamente em uma direção, como, por exemplo, expansão em comprimento. As células de caules e raízes se expandem quase inteiramente por alongamento;

**FIGURA 9.16**

Vias de sinalização que acoplam a percepção do meio ambiente com o controle da divisão celular, permitindo que células em repouso (G_0) progridam no ciclo para G_1 ou para G_2 (A). Hormônios vegetais afetam essa progressão no ciclo celular em pontos específicos. A auxina, em conjunto com a citocinina, é responsável pela formação do complexo ativo CDK/a-CYC/ D_3 no intervalo G_1 -S; a citocinina é responsável pela desfosforilação das cinases, ativando os complexos CDKa/b-CYC/B no intervalo G_2 -M, e o ácido abscísico (ABA) pode interromper a progressão no ciclo na transição de G_1 para S, em decorrência do surgimento de um estresse (B).

seus diâmetros, normalmente, aumentam menos de 5% (Kutschera, 2000).

As células vegetais, antes de alcançarem a maturidade, podem aumentar seus volumes de 10 a 100 vezes; em casos extremos, esse aumento do volume celular pode chegar a 10.000 vezes, como acontece no alongamento dos elementos de vaso do xilema. Essa expansão ocorre sem a perda da integridade mecânica e, geralmente, sem alteração de espessura. Esse aumento de volume é sempre acompanhado pela entrada de água, com relativamente pouco aumento na quantidade de citoplasma, já que se trata de um processo regulado pelo vacúolo (ver Cap. 1, Relações Hídricas). Em termos energéticos e de investimento de material, esse é um processo econômico de crescimento, permitindo que certas plantas, como as sequóias, por exemplo, alcancem dimensões realmente fantásticas.

Muitos fatores influenciam a taxa de expansão/alongamento da parede celular, alguns de natureza intrínseca, como o tipo de célula, sua idade e as presenças de auxina e giberelina, e outros de natureza extrínseca (ambiental), como a disponibilidade de água, luz, temperatura e gravidade. Esses fatores internos e externos agem, provavelmente, modificando certas propriedades da parede celular. O controle da expansão celular é essencial para os processos morfogênicos nos vegetais, já que a morfologia de um órgão é determinada pelo tamanho, forma e número de células. Os padrões de divisão celular, que são iniciados no embrião e nos meristemas, são subsequentemente amplificados e modificados pela expansão celular, produzindo como consequência órgãos com formas e dimensões características.

Para que as células se expandam, a parede celular, que é rígida, deve ser afrouxada de alguma maneira. De acordo com a hipótese do crescimento ácido, esse afrouxamento seria induzido pela acidificação da parede celular, resultante da extrusão de prótons através da membrana plasmática. Esse afrouxamento é essencial, pois uma célula vegetal em crescimento, sob condições hídricas satisfatórias, tem seu turgor (pressão hidrostática positiva do protoplasto contra a parede circundante) e o seu potencial hídrico reduzidos, permitindo a absorção de água e, em consequência, a expansão/alongamento celular. Sem a ocorrência do afrouxamento, a síntese de nova parede somente causaria um espessamento, e não uma expansão.

Hipótese do crescimento ácido

Em 1970, foi proposta uma teoria para explicar como a auxina causaria um aumento na extensibilidade da parede celular. Tal hipótese propõe que a auxina acidifica a região da parede celular por estimular a célula competente a excretar prótons. O abaixamento do pH ativa uma ou mais enzimas, com pH ótimo ácido, que causariam o afrouxamento da parede celular. Há evidências mostrando que a auxina aumenta a taxa de extrusão de prótons, estimulando dois possíveis processos:

- 1) a ativação de H^+ -ATPases preexistentes na membrana plasmática e/ou
- 2) a síntese de novas H^+ -ATPases de membrana plasmática (Fig. 9.17).

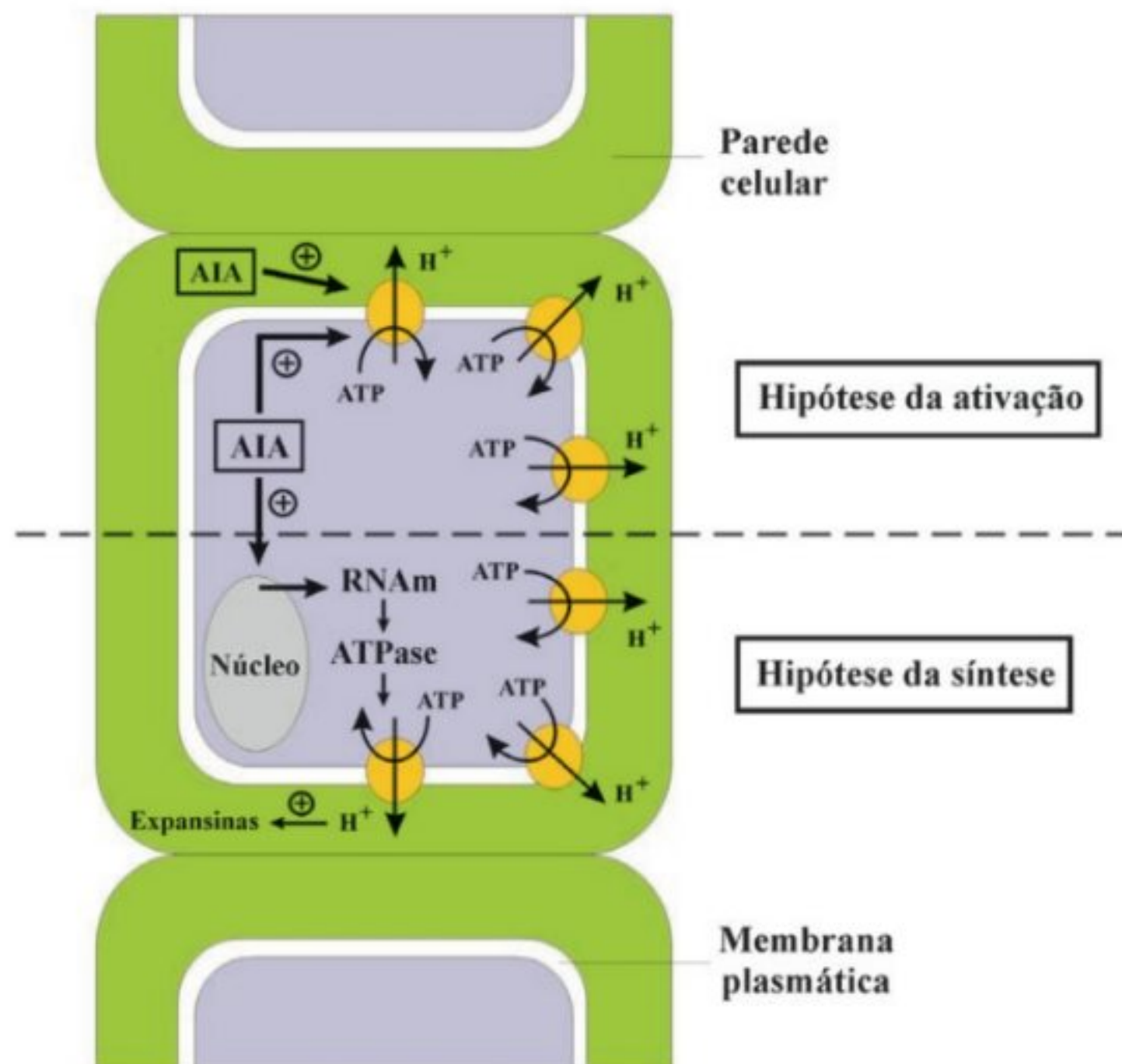


FIGURA 9.17

Modelo de acidificação da parede celular induzida por AIA, por meio da ativação de ATPases preexistentes na membrana plasmática (hipótese da ativação) e/ou pela síntese *de novo* de ATPases que são incorporadas à membrana (hipótese da síntese).

De modo previsível, o estímulo para o crescimento dado pela auxina é dependente de energia; inibidores metabólicos de síntese protéica e de RNAs rapidamente bloqueiam essa resposta de crescimento.

Quando seções de caule ou do coleóptilo são isoladas e colocadas em contato com uma solução de auxina, há um aumento na taxa de crescimento após um curto período: em torno de 10 minutos somente. Esse é considerado o tempo mínimo necessário para que a auxina cause uma hiperpolarização da membrana celular, induzindo um aumento na taxa de crescimento.

A parede é a principal resistência à expansão celular; entretanto, esse mecanismo dependente do pH de aumentar a extensibilidade, denominado de *crescimento ácido*, resulta no deslizamento entre si dos seus polímeros constituintes (polissacarídeos), aumentando assim a área superficial da parede (Fig. 9.18). Quando paredes são tratadas previamente com calor, proteases ou outros agentes que desnaturam proteínas, elas perdem essa capacidade de deslizamento. Esses resultados demonstram que o crescimento ácido não é resultante simplesmente de alterações físico-químicas da parede, mas é catalisado por proteínas de parede, chamadas de expansinas (Cosgrove, 1997). Estas causam o afrouxamento da parede por atuarem sobre as ligações do tipo pontes de hidrogênio, existentes entre as microfibrilas de celulose e as hemiceluloses (polissacarídeos da matriz). O aumento subsequente da extensão é obtido por meio da atividade de hidrolases específicas que são ativadas em pH ácido, como celulases, hemicelulases, glucanases e pectinases

(Fig. 9.18). Ao mesmo tempo em que ocorre o afrouxamento da parede celular, ocorre a absorção de água pelo protoplasma, a qual é induzida pelas reduções do turgor celular e, conseqüentemente, do potencial hídrico, que, assim, se torna mais negativo, permitindo a entrada de água e a expansão.

Continuidade do crescimento

A auxina, além de induzir a acidificação da parede celular e o conseqüente afrouxamento, induz outros processos importantes que proporcionam a continuidade do crescimento da célula, como: os aumentos na absorção de solutos osmóticos (potássio, por exemplo) e na atividade de certas enzimas relacionadas com a biossíntese de polissacarídeos de parede.

Alguns processos bioquímicos devem ocorrer nas células em expansão para compensar a diluição do conteúdo vacuolar causado pela entrada de água, levando a um ajustamento osmótico ou osmorregulação para manutenção do turgor celular. Um mecanismo de osmorregulação induzido pela ação da auxina foi observado em células do coleóptilo de milho em processo de alongamento, onde a aplicação de auxina (ANA) aumentava o número de canais de entrada de potássio na membrana plasmática. Isso foi resultante da regulação da expressão gênica causada pela auxina, isto é, o nível de transcrição do gene *zmk1*, que codifica a proteína de canal de K^+ em *Zea mays*, foi aumentado de 5 a 7 vezes, triplicando o número de canais ativos de K^+ por célula (Philippart *et al.*, 1999).

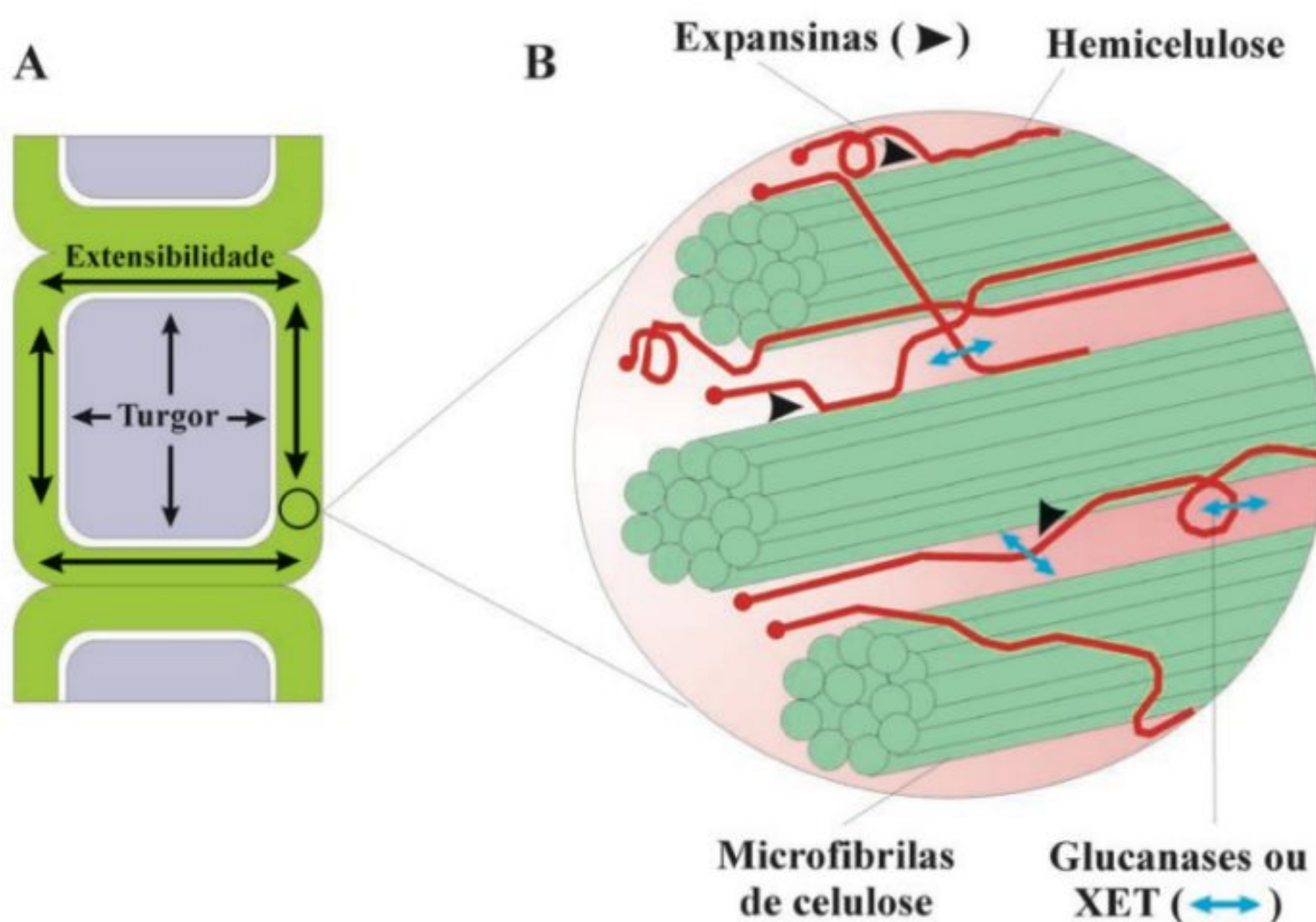
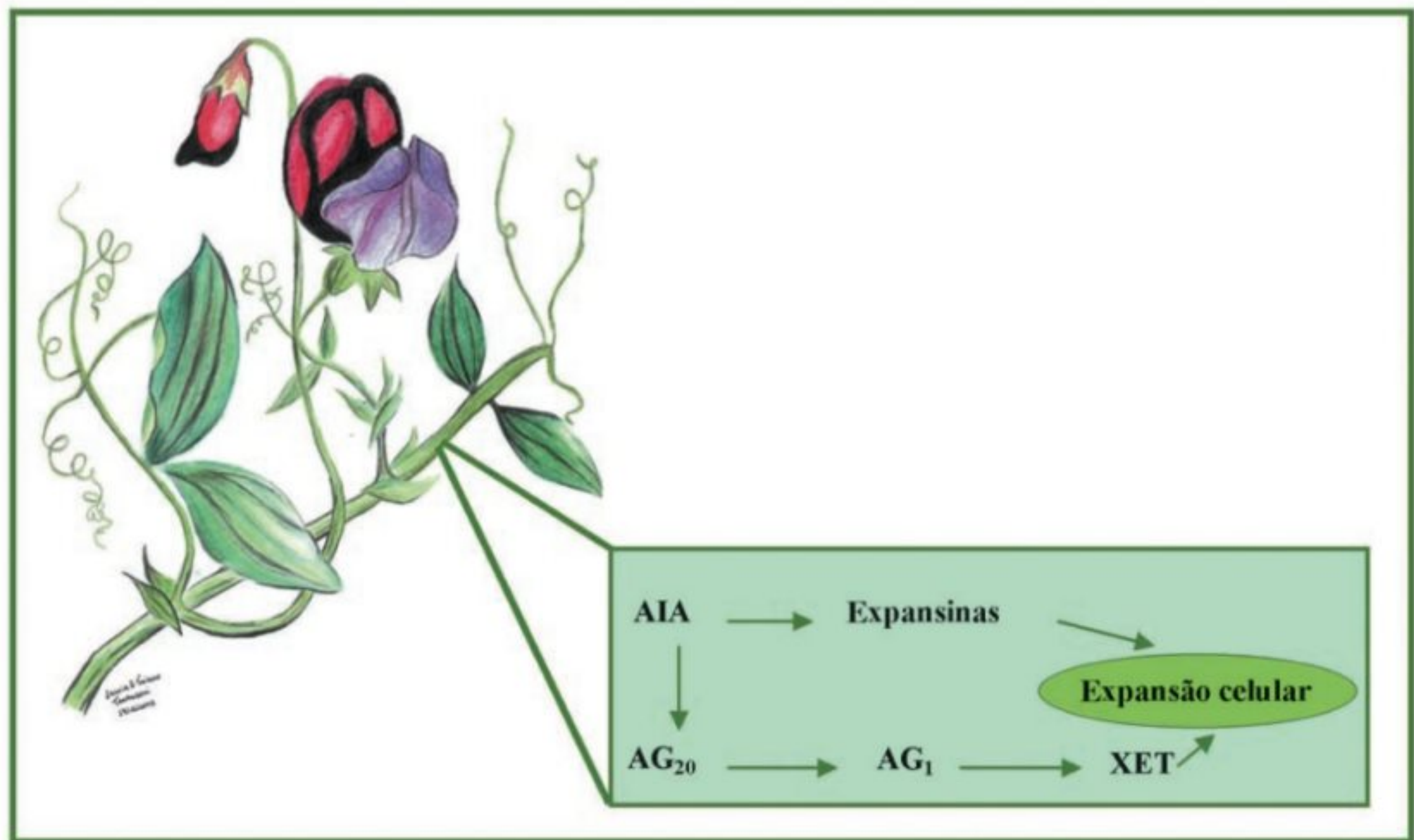


FIGURA 9.18

Esquema da parede primária mostrando a pressão de turgor dentro da célula dirigida sobre a parede celular (A) e os pontos de atuação de algumas enzimas que agem no processo de afrouxamento da parede durante o crescimento (B). A auxina está envolvida com o rompimento das ligações da hemicelulose, permitindo que as microfibrilas de celulose deslizem umas sobre as outras, e também distanciando-se, assim, umas das outras.

**FIGURA 9.19**

Efeito da auxina sobre a síntese de giberelina em caule de ervilha. O AIA é transportado do ápice para a região dos entrenós em alongamento, onde ativa a etapa de transformação de AG_{20} para AG_1 .

Outro aspecto interessante acerca do crescimento é que a auxina pode induzir a síntese de outros hormônios, como, por exemplo, a do ácido giberélico (AG_1), que também tem efeito sobre o alongamento celular (Ross & O'Neill, 2001). A indução da biossíntese de AG_1 por AIA foi descoberta durante a investigação para saber por que a decapitação do caule de ervilha eliminava sua capacidade de sintetizar AG_1 a partir de seu precursor AG_{20} (Fig. 9.19). Como o ácido giberélico é conhecido por sua ação sobre o alongamento celular, fica então caracterizada uma ação sinérgica entre a auxina e a giberelina na expansão celular. Para alguns vegetais, sabe-se que a giberelina participa da promoção da síntese da enzima xiloglucano endotransglicosidase, conhecida por XET, a qual é responsável pela modificação do arranjo dos xiloglucanos na parede celular primária (Fig. 9.18). Em dicotiledôneas, o xiloglucano é o principal componente da fração hemicelulósica da parede primária e a XET promove a quebra entre as ligações da celulose com o xiloglucano, causando o afrouxamento da parede. Assim, numa ação coordenada entre expansinas e XET, a expansão/alongamento celular pode ocorrer (ver Cap. 8, Parede Celular).

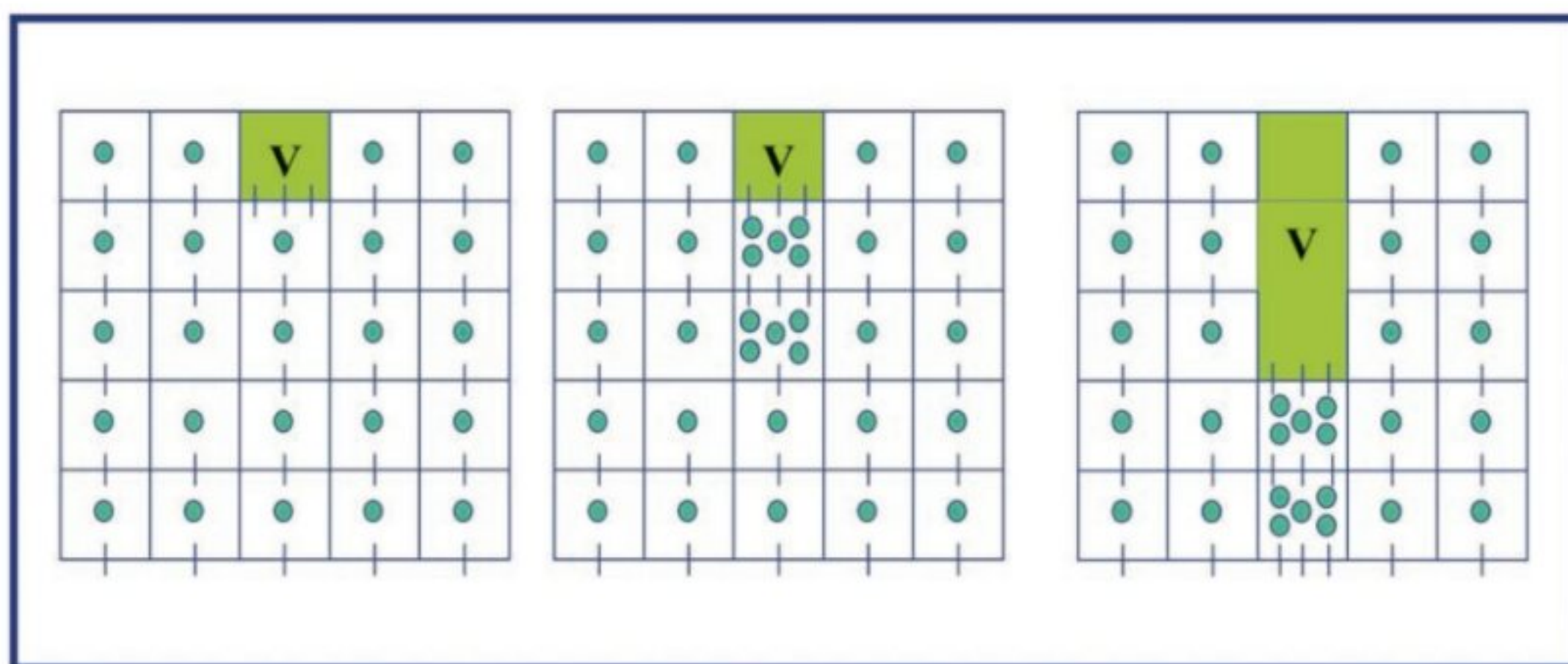
A expansão e/ou o alongamento celular, durante o crescimento vegetal, são processos irreversíveis que requerem, como já mencionado, a absorção de água (cerca de 70 a 95% da massa das células em crescimento é composta por água), bem como a adição de parede ao redor de cada célula. A continuidade do crescimento é, então, dependente da síntese e secreção de polissacarídeos e proteínas necessárias ao aumento da parede, além

de materiais imprescindíveis ao próprio aumento da membrana plasmática.

O término do crescimento ocorre durante a maturação da célula, sendo acompanhado pelo aumento da rigidez da parede celular. Redução na capacidade de afrouxamento da parede acontece em consequência de alterações estruturais e em sua composição, tornando-a mais rígida e menos susceptível ao relaxamento. Como, por exemplo, alterações sofridas pelas hemiceluloses, que se tornam menos ramificadas, formando complexos mais compactos com a celulose e outros polímeros de parede. Além disso, ocorre uma redução na expressão dos genes codificadores das expansinas e/ou a parede se torna menos vulnerável à ação dessas enzimas.

DIFERENCIAÇÃO CELULAR

Além do controle exercido pelas auxinas no crescimento celular, conforme visto antes, elas estão também envolvidas com o controle da diferenciação celular. Um exemplo disso é a diferenciação vascular que ocorre nos eixos caulinares em função dos níveis de auxina produzida nas folhas jovens em processo de desenvolvimento. Em *Coleus*, a formação de xilema (xilogênese) na base do pecíolo é diretamente proporcional ao fluxo difusível de AIA que se move no sentido limbo-pecíolo. O desfolhamento do epicótilo dessa planta reduziu intensamente a xilogênese. Entretanto, esse efeito pôde ser revertido com a aplicação de quantidade equivalente de auxina.

**FIGURA 9.20**

Hipótese da canalização do sinal. À esquerda, células adjacentes ao elemento de transporte rompido (V) têm capacidade similar de transporte de auxina (círculo). Ao centro, uma célula na posição terminal do elemento injuriado torna-se mais eficiente para o transporte de auxina (pequenas barras verticais). À direita, células melhores transportadoras de auxina se diferenciam em tecido vascular.

A continuidade do tecido xilemático ao longo do vegetal resulta do transporte polar de auxina proveniente do ápice, movendo-se para as raízes. O nível endógeno desse hormônio controla o início da diferenciação de elementos vasculares. Em tecidos injuriados mecanicamente, a rediferenciação de células do parênquima em elementos condutores também é induzida por auxina. Normalmente, quando há a interrupção de um feixe vascular em consequência de um ferimento, ocorre a revascularização da região próxima, de tal forma que as células vizinhas do ferimento se desdiferenciam, formando, posteriormente, novos elementos vasculares (xilema ou floema). Esses elementos podem restabelecer a continuidade do feixe original.

Uma das teorias propostas para explicar a rediferenciação é a chamada hipótese da canalização do sinal (Nelson & Dengler, 1997), segundo a qual a canalização do fluxo de auxina por determinadas células seria o fator determinante na formação de novos elementos de transporte. A Fig. 9.20 mostra que, inicialmente, todas as células ao redor do feixe vascular injuriado teriam a mesma capacidade de transportar auxina; todavia, gradualmente, certas células tornar-se-iam mais competentes para esse transporte, aumentando o fluxo de auxina transportada, basipetamente, as quais se diferenciariam, então, em tecido vascular.

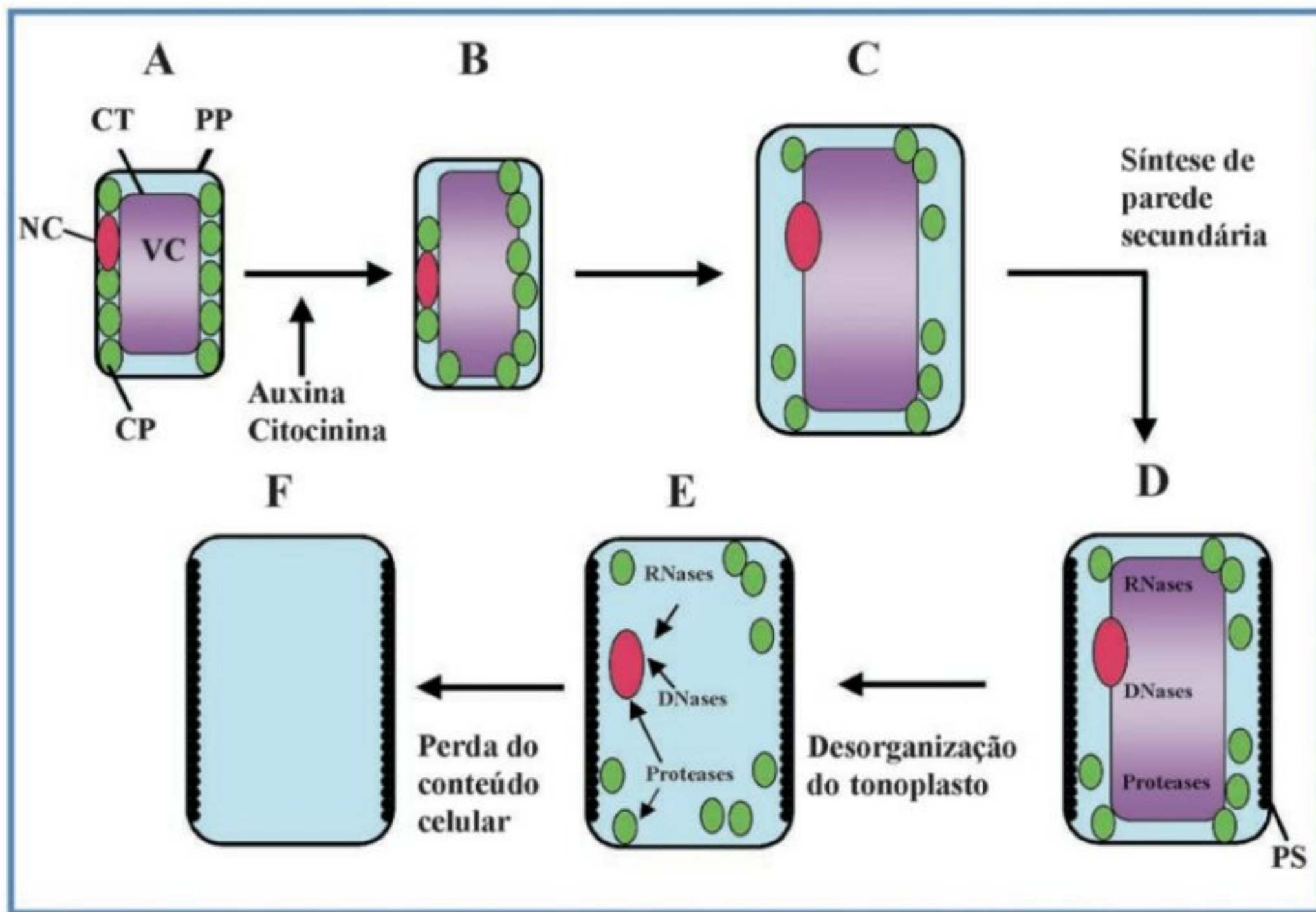
Um modelo de estudo muito interessante de rediferenciação foi estabelecido a partir de células isoladas do mesofilo de *Zinnia elegans* cultivadas *in vitro*. Essas células, em resposta à aplicação de auxina, transformam-se em elementos traqueais (Fukuda, 1997). Nesse caso, a presença de citocinina também se mostrou necessária, aumentando talvez a sensibilidade dessas células à ação da auxina. Todo o processo de rediferenciação pode ser acompanhado em uma única célula, como mostrado na Fig. 9.21. Nesse exemplo, a rediferenciação é iniciada com o processo de desdiferenciação, seguida por uma nova diferenciação celular.

Assim, a célula do mesofilo perde sua capacidade fotossintética, seu conteúdo celular, ao mesmo tempo em que se alonga e produz a parede secundária. Esses eventos parecem corresponder aos mesmos processos verificados *in vivo*, onde células meristemáticas apicais originam as células procambiais, e estas, por sua vez, transformam-se diretamente em elementos traqueais. Atualmente, esse modelo vem sendo empregado em pesquisas sobre a expressão gênica específica relacionada com a diferenciação xilemática. A diferenciação dos elementos traqueais constitui um exemplo típico de *morte celular programada* que ocorre nos vegetais ainda num estágio bastante precoce do desenvolvimento. Os elementos traqueais maturam, após a perda dos conteúdos citoplasmático e nuclear, por meio da ação de enzimas hidrolíticas, como DNases, RNases e proteases. Por meio da digestão parcial das paredes primárias, poros se abrem na extremidade de cada elemento de vaso, os quais estão longitudinalmente alinhados, formando um longo tubo de condução. O processo de morte celular acontece simultaneamente à formação das paredes secundárias.

Desenvolvimento do eixo caulinar

QUEBRA DA DOMINÂNCIA APICAL E CRESCIMENTO DA GEMA AXILAR

Com a continuidade do crescimento do ápice vegetativo e a formação de novos primórdios foliares, pequenos grupos de células posicionados na inserção do primórdio foliar no caule (região axilar) isolam-se do meristema apical e constituem-se numa gema axilar ou lateral. Dependendo da espécie, a região axilar pode conter uma ou mais gemas, todas elas com potencial suficiente de se desenvolverem em novos ramos; todavia, apesar disso, a maioria delas permanece dormente por todo o ciclo de vida da planta.

**FIGURA 9.21**

Rediferenciação de uma célula isolada do mesofilo de *Zinnia* em elemento traqueal: (A) quando isolada; (B) desdiferenciada pela ação da auxina; (C) célula alongada precursora do elemento traqueal; (D) início da deposição de parede secundária no elemento traqueal imaturo e acúmulo de enzimas hidrolíticas no vacúolo; (E) elemento traqueal em maturação, após o rompimento do vacúolo, possibilitando a ação das enzimas hidrolíticas; (F) elemento traqueal maduro, com perda total do conteúdo celular. CP, cloroplasto; CT, citoplasma; NC, núcleo; PP, parede primária; PS, parede secundária; VC, vacúolo.

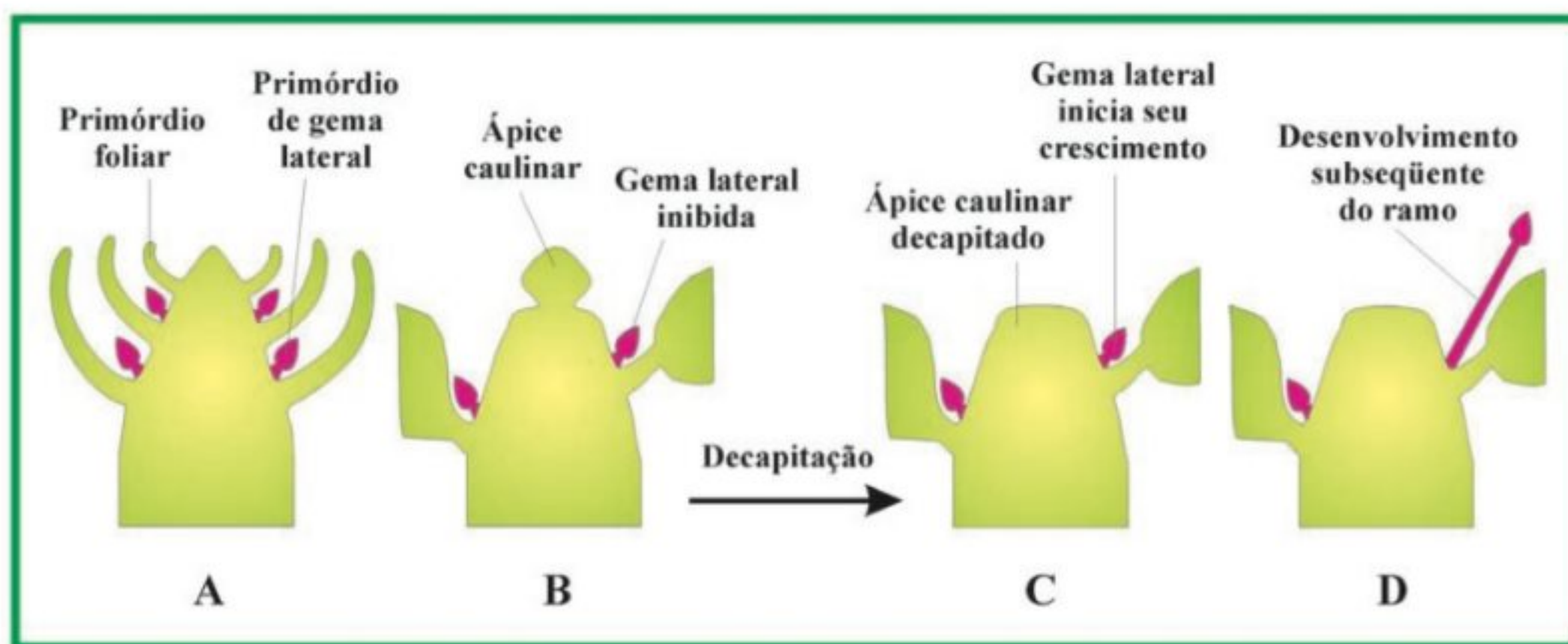
A remoção do ápice caulinar induz a retomada de crescimento da gema lateral, fazendo dessa prática, conhecida por despontamento ou decapitação, uma técnica comum entre os horticultores para obtenção de plantas ramificadas, em forma de touceira ou, ainda, em miniatura, como o bonsai. A inibição do crescimento da gema axilar pela apical, isto é, o controle exercido pelo ápice vegetativo sobre o desenvolvimento da gema lateral, é conhecido como *dominância apical*, *inibição correlativa* ou *paradormência*.

Nos dias e semanas subseqüentes à remoção do ápice, isto é, depois da quebra da dominância, pode-se quantificar o alongamento da gema lateral, observando o desenvolvimento de um novo ramo (Fig. 9.22).

O grau de imposição da inibição pode variar bastante entre as plantas herbáceas, indo da quase inexistência, situação na qual a gema lateral cresce mesmo na presença do ápice, como acontece na bromélia epífita *Tillandsia recurvata*, cuja dominância é portanto fraca. Ou a imposição da inibição pode ser intermediária ou parcial, caso em que a gema lateral cresce até certo ponto, mesmo sem haver a decapitação. A dominância apical é dita forte, isto é, a imposição da inibição é completa, como acontece em plantas de girassol, tradescância e *Ipomoea*. Nessas últimas plantas, a quebra da dominância somente ocorre após a decapitação.

A quebra da dominância apical pode ser induzida pela aplicação direta de citocinina sobre a gema lateral ou, de modo contrário, pode ser revertida pelo tratamento com auxina no ápice decapitado. Logo após a perda da dominância, inicia-se o crescimento da gema lateral, que começa a produzir sua própria auxina, aumentando seu alongamento.

Para as plantas arbóreas, prefere-se o uso do termo controle apical ao de dominância, já que seria um conceito mais amplo que inclui o controle do ápice sobre a orientação dos ramos laterais e folhas, dando origem à arquitetura da copa da árvore. Para as coníferas, como, por exemplo, o pinheiro de Natal, um único ramo central tem um forte controle apical sobre os demais. Se o pinheiro for despontado, então um dos ramos mais próximos ao ápice toma seu lugar, curvando-se verticalmente e assumindo a dominância sobre os demais. Já para as arbóreas sem um ramo líder e com fraco controle apical (exceto quando muito jovens), os ramos laterais superam em crescimento o eixo central original, dando a forma arredondada à árvore. Ao se considerar individualmente cada ramo, este possui forte dominância apical sobre as gemas laterais contidas nele próprio, inibindo o crescimento destas até a primavera seguinte ou a próxima estação de crescimento. Assim, o termo dominância apical, quando aplicado às árvores, refere-se ao controle do ápice de um galho individual

**FIGURA 9.22**

Estágios do desenvolvimento da dominância apical antes e depois da decapitação do ápice caulinar. Antes da remoção do ápice, têm-se os estágios de formação da gema lateral (A) e o de imposição da inibição (dominância apical) (B). Após a decapitação (quebra da dominância apical), tem-se o início do crescimento da gema axilar no segmento induzido (C) e o subsequente desenvolvimento de um novo ramo (D).

sobre o crescimento das gemas laterais desse ramo durante a estação de crescimento em curso.

O mecanismo da dominância apical representa particularmente o processo fisiológico envolvido na imposição e quebra da dominância. A teoria mais amplamente aceita pressupõe que a concentração ideal de auxina para estimular o crescimento da gema axilar seria muito mais baixa que o teor de auxina necessário ao crescimento do ápice caulinar. Assim, o fluxo de auxina proveniente do ápice e que segue para a região basal da planta poderia inibir o desenvolvimento da gema axilar por estar numa concentração acima da ideal. A remoção da fonte de produção desse hormônio (decapitação) reduz o fornecimento de auxina na região da gema lateral, liberando-a da inibição. Plantas transgênicas de tabaco deficientes em auxina exibem uma fraca dominância apical atribuída a uma provável redução no teor de auxina em estágios iniciais da formação da gema.

Outros hormônios, principalmente citocininas e ácido abscísico (ABA), podem também estar envolvidos com o mecanismo da dominância, mas a natureza dessa interação não está totalmente esclarecida. A concentração relativa de citocininas e do ABA, assim como a sensibilidade dos tecidos a eles, são fatores que devem ser considerados.

As citocininas podem antagonizar o efeito da auxina. Em muitas espécies, a aplicação de citocininas no ápice caulinar ou diretamente sobre a gema axilar libera esta da inibição. Tomateiros mutantes expressando uma forte dominância apical contêm baixas quantidades de citocininas endógenas em relação àqueles com dominância normal (ver Cap. 10, Citocininas). Estudos têm mostrado uma correlação entre a inibição do crescimento da gema axilar e o teor de ABA na gema. Em feijoeiro decapitado, por exemplo, a concentração de ABA na gema foi inferior ao do controle intacto. Já a aplicação de auxina no ápice cortado substitui o efeito do ápice, prevenindo a diminuição do conteúdo de

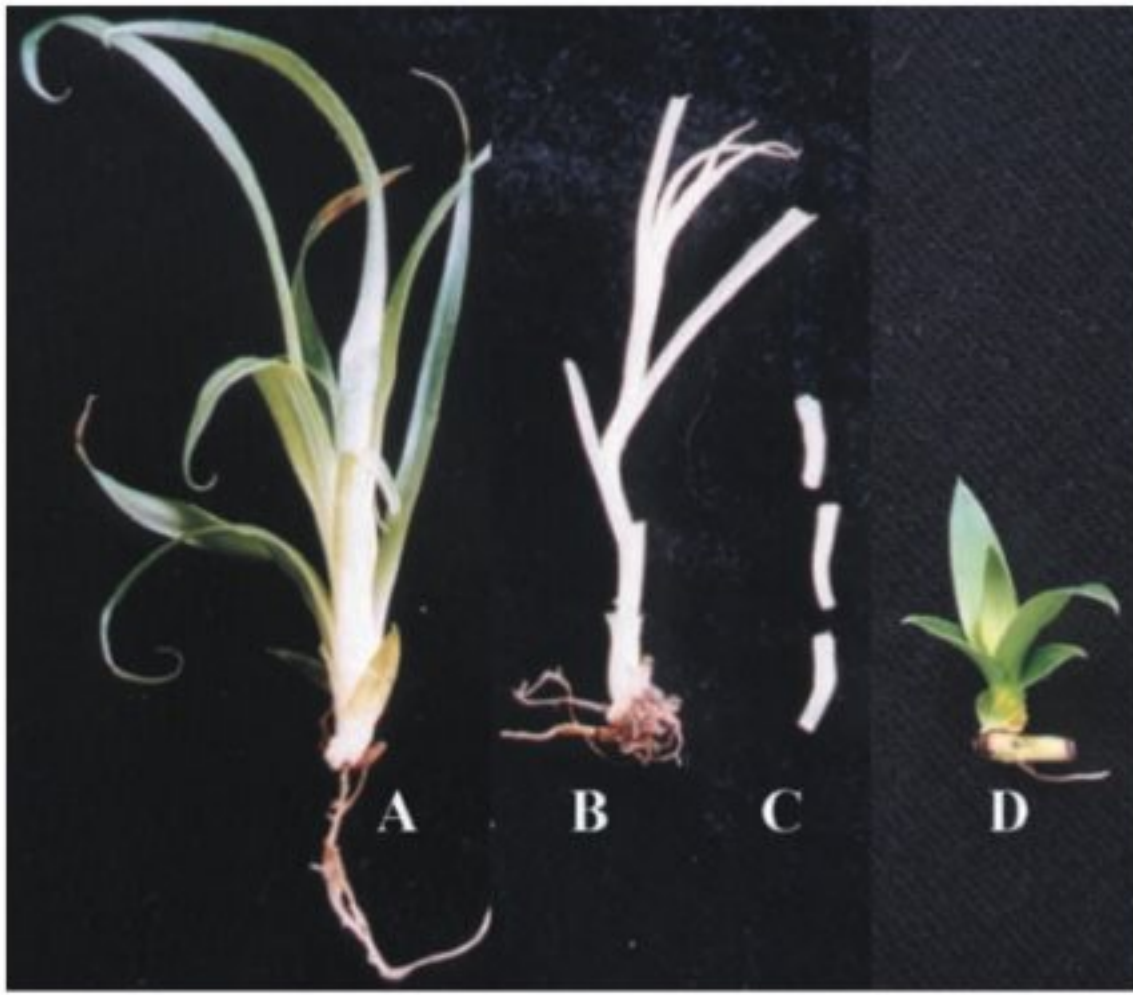
ABA. Assim, as abordagens hormonais sobre dominância apical devem sempre considerar o balanço endógeno entre auxinas/citocininas e de ácido abscísico/citocininas, suas concentrações relativas no tecido vegetal, visando a uma melhor compreensão da função.

A cultura de tecidos vegetais utiliza-se, freqüentemente, da prática da quebra da dominância visando à obtenção de novas plantas. Essa técnica de micropropagação isola para o cultivo porções caulinares diminutas, contendo a gema lateral, que, após alguns dias ou semanas, se desenvolve em uma planta completa (eixo caulinar e raízes). Tal procedimento vem sendo empregado, amplamente, para a clonagem *in vitro* de plantas comercialmente importantes, como é o caso, por exemplo, do abacaxizeiro (Souza *et al.*, 2003) (Fig. 9.23).

FORMAÇÃO DOS PRIMÓRDIOS FOLIARES E FILOTAXIA

O posicionamento das folhas em torno do caule vegetal é conhecido como filotaxia, podendo apresentar diferentes padrões. Os mais comuns na natureza são a filotaxia em espiral (uma folha por nó formando entre elas ângulos de aproximadamente $137,5^\circ$), a alternada (com ângulos de 180° de divergência) e a decussada ou oposta cruzada (duas folhas opostas por nó, formando ângulos de 90° entre os pares) (Fig. 9.24). Sugere-se, atualmente, que o transporte e o acúmulo de AIA no meristema apical caulinar (MAC) definem o padrão de filotaxia vegetal.

Estratégias interessantes foram adotadas para visualizar as rotas de transporte do AIA e seus padrões de acúmulo. Por meio do monitoramento da localização subcelular das proteínas PIN no MAC, isto é, utilizando a técnica de imunolocalização que emprega anticorpos dirigidos contra essas proteínas, foi proposto um modelo que explica a regulação da formação dos primórdios

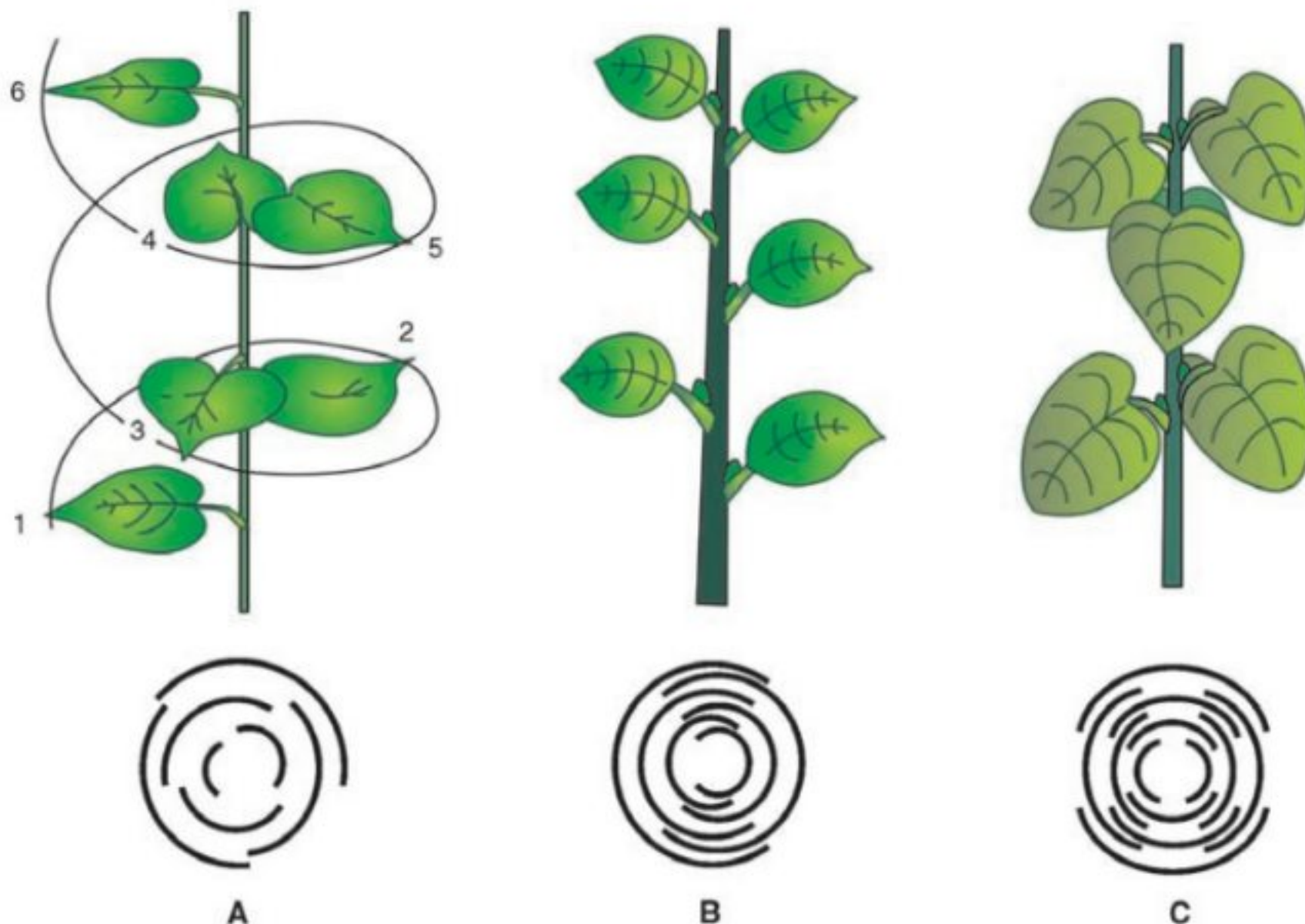
**FIGURA 9.23**

Obtenção de mudas de abacaxizeiro por meio do cultivo *in vitro* de segmentos nodais. Para facilitar a obtenção dos explantes caulinares contendo a gema lateral, a planta de abacaxizeiro, cujo caule é muito reduzido (A), é submetida previamente a um período de escuro para que o caule se alongue (processo de estiolamento) (B) e, como consequência, aumente a distância entre os seus nós. Segmentos nodais de aproximadamente 1 cm são cortados (C) e cultivados por 3 meses até o desenvolvimento de uma nova planta (D).

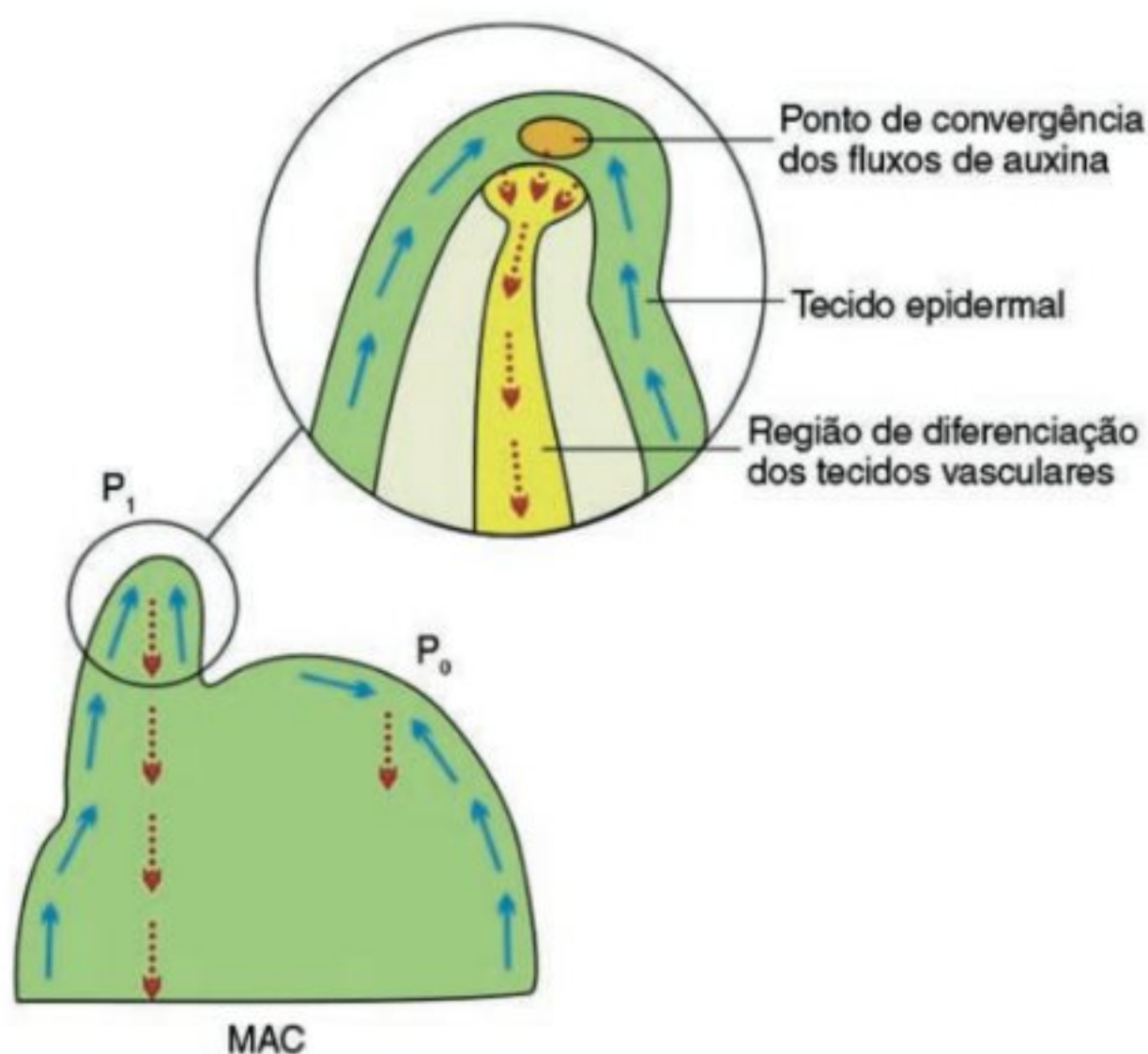
foliares e a filotaxia (Berleth *et al.*, 2007). De acordo com essa hipótese, as auxinas são transportadas pelas células epidérmicas em direção ao MAC (sentido base-ápice), resultando num ponto de convergência dos fluxos de auxina, o qual determinará o local da formação do primórdio foliar (Fig. 9.25). Uma vez este estabelecido, o AIA passa a ser transportado no sentido basípeto (ápice-base) pelos tecidos internos imaturos do primórdio, onde gradualmente induz a formação dos tecidos vasculares, isto é, células com um aumento no fluxo de auxina se diferenciam em xilema e floema (hipótese da canalização). Observou-se que as proteínas PIN estão localizadas na face apical das células epidérmicas, isto é, em direção ao ponto de convergência; já nas subepidérmicas estão na face basal. Postula-se que a região interna central do primórdio drenaria grande parte do AIA, resultando numa diminuição de sua concentração nos tecidos adjacentes. Um novo local de acúmulo somente surge a certa distância do primórdio preexistente, permitindo que o padrão de filotaxia se estabeleça. Concomitantemente ao crescimento da lâmina foliar, há a formação da nervura principal, que está associada, portanto, com o ponto de convergência do transporte de auxina nas células da epiderme da margem do primórdio (Fig. 9.25).

FORMAÇÃO DO GANCHO APICAL

Durante o desenvolvimento do eixo caulinar de plântulas de dicotiledôneas, há a formação de uma curvatura logo abaixo do ápice caulinar, a qual é conhecida por *gancho apical* ou *gancho*

**FIGURA 9.24**

Padrões de filotaxia: espiral — ângulos de aproximadamente $137,5^\circ$ (A); alternada — uma folha por nó com ângulo de divergência de 180° (B); decussada ou oposta cruzada — duas folhas opostas por nó com ângulos de 90° entre os pares (C).

**FIGURA 9.25**

Diferentes direções que o fluxo de auxina pode assumir e a localização do aparecimento dos primórdios foliares. Nas células epidérmicas do MAC os fluxos de auxina vão em direção acrópeta (da base para o ápice) e então em direção basípeta, determinando o local de formação do novo primórdio foliar (P_0). A partir de P_0 , a auxina é transportada basipetalmente pelos tecidos internos, onde esse hormônio induz, gradualmente, a formação das nervuras. O primórdio P_1 drena a auxina das áreas circunvizinhas, transportando-a no sentido basípeta através do sistema vascular em diferenciação.

plumular. Sua presença facilita a passagem da plântula através do solo até sua emergência, protegendo o meristema apical de possíveis injúrias mecânicas durante o seu crescimento.

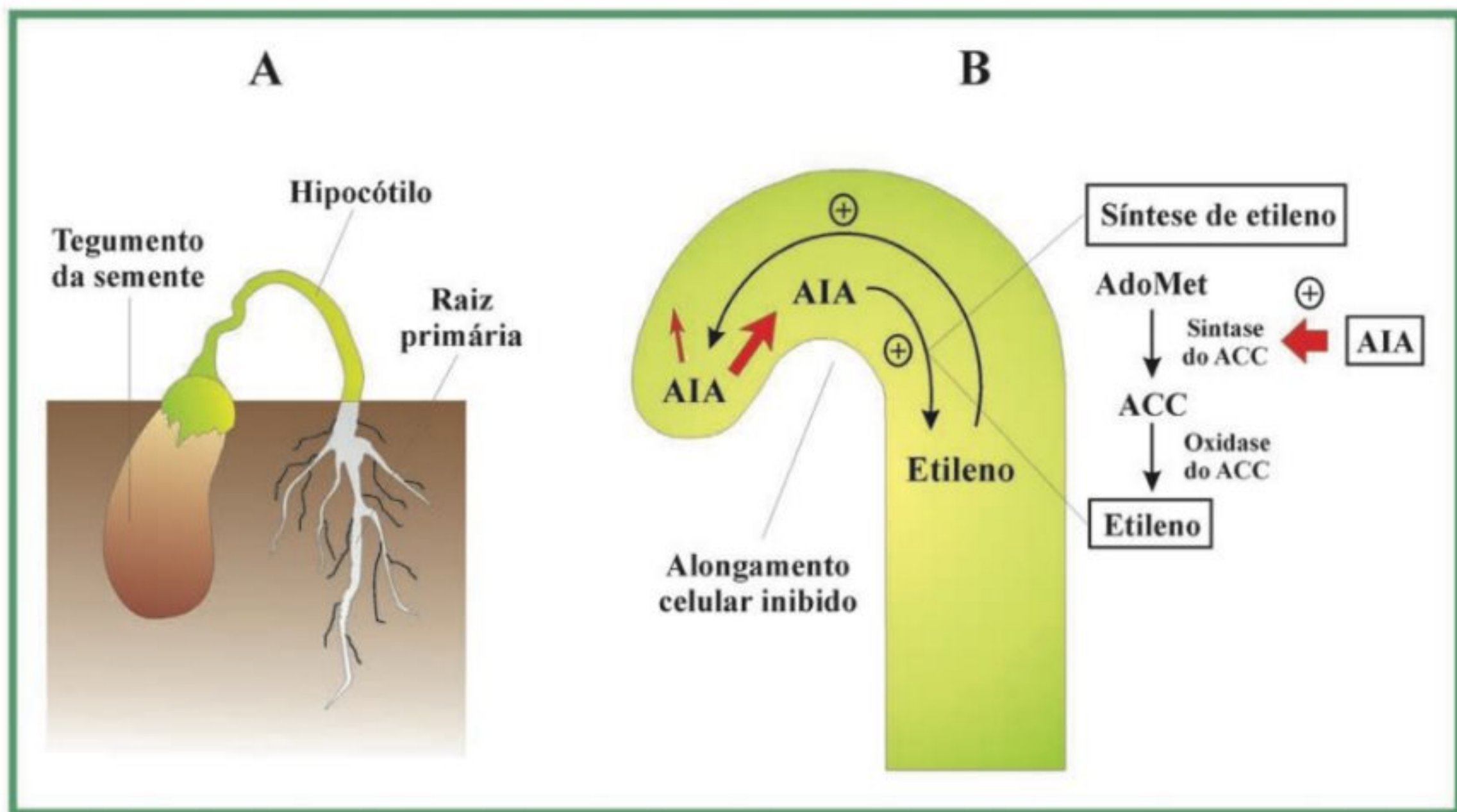
Essa curvatura tem sua origem em um crescimento diferencial entre o lado interno do gancho (face côncava) e o lado externo (face convexa), o qual cresce mais rapidamente. Na formação do gancho em plântulas de feijoeiro, foi demonstrado que a distribuição desigual do AIA tem um papel muito importante, já que esse hormônio é transportado assimetricamente do ápice para o hipocótilo, sendo então encontrado em maior proporção no lado interno do gancho. Esse acúmulo de AIA induz a síntese de um outro hormônio, o etileno, cuja concentração é também maior nesse mesmo lado, inibindo a taxa de alongamento das células dessa região. Além disso, o tecido do lado interno é mais responsivo ao etileno. O etileno, por sua vez, perturba o transporte polar simétrico do AIA, favorecendo o fluxo lateral da auxina para as células da região interna do gancho. Esse efeito do tipo retroalimentação positiva garante a manutenção do gancho (Fig. 9.26). Entretanto, quando a plântula rompe a barreira do solo e encontra a luz, esta inibe a manutenção do gancho apical, permitindo que o caule adquira seu crescimento fototrópico normal.

Desenvolvimento radicular

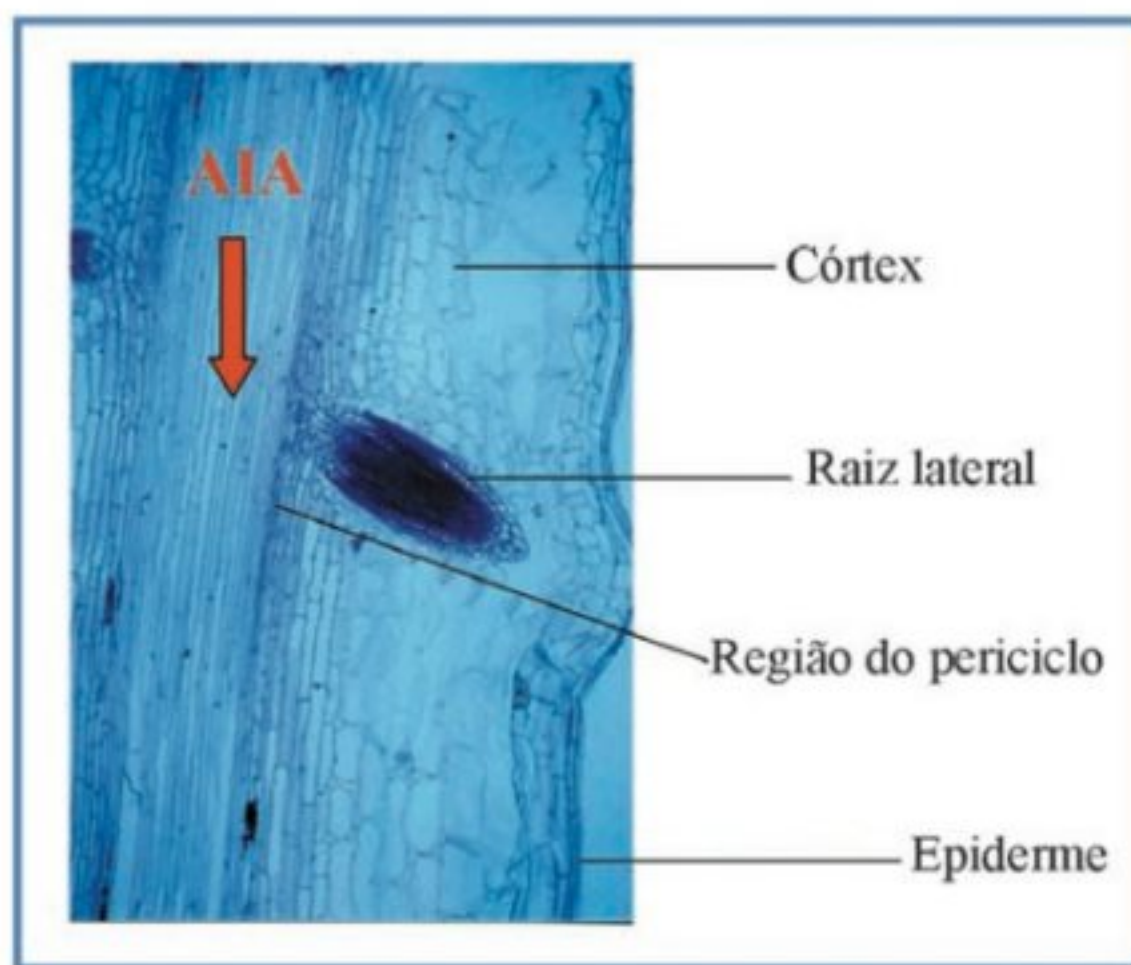
O conteúdo de auxina da raiz primária tem origem principalmente no transporte polar desse hormônio da parte aérea; todavia, existe também em escala relativamente menor a síntese *de novo* no próprio ápice da raiz. O nível de auxina resultante dessas duas vias é, então, adequado para proporcionar o crescimento das células radiculares num processo de desenvolvimento normal.

As raízes laterais são normalmente formadas acima (tomando-se o ápice radicular como referência) das regiões de alongamento e de maturação (porção onde aparecem os pêlos radiculares) na raiz primária. Certas células da camada do periciclo, responsivas à auxina, iniciam o processo de divisão celular, formando o primórdio da raiz lateral. Este se desenvolve atravessando radialmente o córtex e emergindo através da epiderme (Fig. 9.27). A nova raiz lateral se alonga e amadurece, conectando-se com os tecidos vasculares da raiz primária. Ainda não se tem explicação para o fato de apenas algumas células do periciclo serem capazes de responder à auxina e iniciar a formação de raízes laterais. O que se observa é que somente as células aptas a interpretar o sinal indutor dado pela auxina iniciam a formação de novos primórdios radiculares, e, talvez, essa capacidade seja fruto de um estado de aptidão estabelecido muito cedo no desenvolvimento radicular, ou seja, em células derivadas do meristema que irão fazer parte da camada do periciclo. Foi identificado e clonado o gene *rsI-1* (*rsI-1*: do inglês *root system inducible-1*) de tomateiro que é expresso restritamente no primórdio de raiz lateral e cuja expressão é induzida por auxina; entretanto, a sua função junto a essas células ainda não é conhecida.

Foi proposta, recentemente, uma hipótese sobre o mecanismo hormonal que controla a formação das raízes laterais na zona de diferenciação de raízes de dicotiledôneas em crescimento (Aloni *et al.*, 2006). Essa hipótese aborda a participação de três classes hormonais — auxinas, etileno e citocininas — na regulação da indução dessas raízes (Fig. 9.28). O sinal primário é o AIA, que se origina do ápice caulinar e de folhas jovens, movendo-se em direção ao ápice radicular ao longo do cilindro vascular através do periciclo e das células que se diferenciarão em xilema. As citocininas, que inibem a iniciação de raízes laterais, originam-se na coifa e movem-se em direção ao ápice caulinar através das células do cilindro vascular radicular. Já o etileno, que é produzido nas células que se diferenciarão em xilema, determina o local em que ocorrerá a formação da raiz lateral. A sinalização inicia-se com a síntese de etileno pelos elementos de vaso do protoxilema em diferenciação, em consequência de uma elevada concentração de AIA que se forma a certa distância do ápice caulinar. Salienta-se que esse transporte basípeta de AIA é essencial para que a diferenciação dos elementos de vaso aconteça. O etileno se difunde para os tecidos vizinhos, entretanto a endoderme (composta por células compactamente arranjadas, não formando espaços intercelulares) diminui a difusão do etileno para as outras células do córtex, promovendo, assim, um aumento localizado da concentração do etileno no periciclo, que acaba por inibir o movimento do AIA nessas células. Imediatamente acima desse ponto de interrupção do transporte de auxina, mais AIA que chega do ápice caulinar se acumula no periciclo; esse rápido incremento no

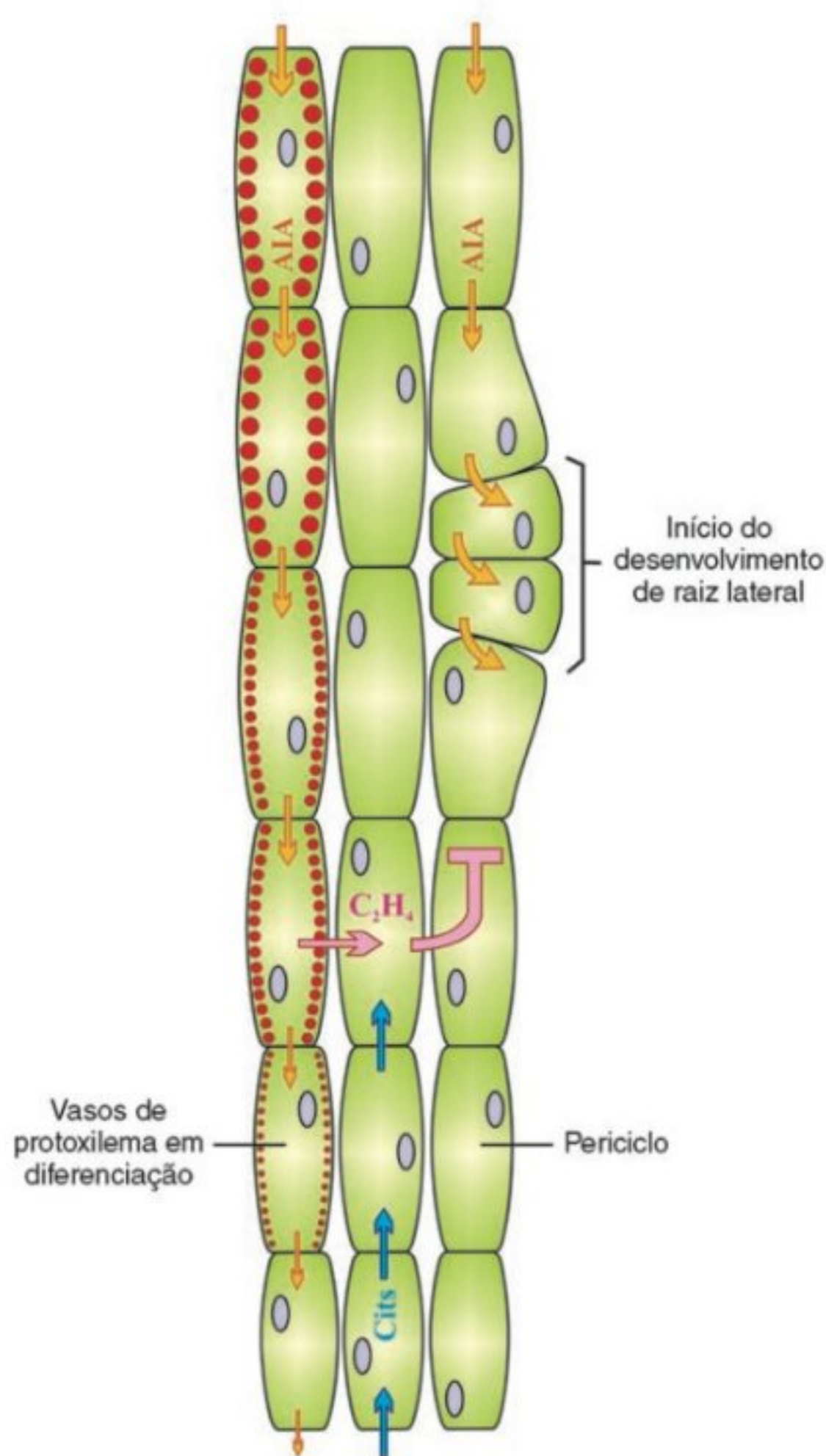
**FIGURA 9.26**

Plântula de feijoeiro com formação de gancho apical (A). Esquema indicativo dos fatores hormonais envolvidos na formação do gancho apical (B). Uma distribuição desigual de AIA gera níveis indutores da síntese de etileno de um dos lados do hipocótilo, causando a inibição do alongamento das células dessa região. O AIA age positivamente sobre a regulação do nível da enzima sintase do ACC que catalisa uma etapa limitante da síntese do etileno. AdoMet = adenosilmetionina; ACC = ácido carboxílico aminociclopropano; sintase do ACC = sintase do ácido carboxílico aminociclopropano; oxidase do ACC = oxidase do ácido carboxílico aminociclopropano.

**FIGURA 9.27**

Corte longitudinal de raiz primária de *Eichhornia*, mostrando o desenvolvimento de uma raiz lateral. Algumas células do periciclo iniciam as divisões celulares induzidas por AIA, formando o primórdio da raiz lateral.

teor de AIA estimula a divisão celular em células responsivas ao AIA do periciclo e, conseqüentemente, a formação do primórdio radicular adjacente aos vasos de protoxilema em diferenciação (Fig. 9.28). A distância entre o aparecimento da raiz lateral e o ápice radicular é regulada pela concentração de citocininas. O alto teor desse hormônio na coifa antagoniza a ação do AIA, inibindo a formação da raiz lateral na proximidade do ápice radicular. Acima da zona de alongamento, onde a concentração de citocininas diminui, o primórdio radicular se forma. Essa hipótese também pode ser usada para explicar a indução da formação de raízes adventícias em caules. Em mutantes de tomateiro ("never ripe"), os quais são insensíveis ao etileno, pouquíssimas raízes adventícias desenvolvem-se nos caules, se comparado com os tomateiros selvagens, indicando que a percepção do etileno é fator essencial à inibição do transporte polar do AIA pelas células do periciclo. A aplicação de etileno, ou tratamentos que induzam a produção desse hormônio, causa uma inibição local do transporte de AIA no periciclo de raízes e de caules; imediatamente acima desses locais de inibição do transporte de AIA, a acumulação dessa auxina induz a iniciação de raízes laterais e adventícias, respectivamente.

**FIGURA 9.28**

Modelo de regulação da formação de raízes laterais mediada por três classes hormonais: auxinas, citocininas e etileno. O transporte polar do AIA (setas laranja) ocorre por células do sistema vascular, diferenciando os elementos de vaso (marcado em vermelho o gradual espessamento da parede secundária) e mantendo a identidade meristemática das células do periciclo. Durante a diferenciação dos vasos xilêmáticos, um acúmulo de AIA ocorre a certa distância do ápice caulinar, induzindo a síntese de etileno. Esse gás se difunde para o periciclo (seta rosa), onde age inibindo o transporte de AIA e causando, por consequência, um incremento do teor de auxina na região imediatamente acima da interrupção do transporte. O acúmulo de AIA induz a divisão celular e o surgimento do primórdio da raiz lateral. As citocininas (setas azuis), transportadas da coifa em direção acrópeta, inibem a iniciação de raízes laterais em regiões próximas ao ápice radicular.

As raízes adventícias podem originar-se de grupos de células maduras de vários tecidos, como de caule ou folha. Essas células entram no ciclo celular, retomando a capacidade de se dividirem, formando assim um meristema radicular de maneira análoga à

formação das raízes laterais. Em horticultura, o efeito indutor da auxina tem sido muito utilizado na propagação vegetativa de plantas por estquia. Folhas ou estacas caulinares de várias plantas, quando colocadas em água ou em um substrato úmido, normalmente formam raízes adventícias próximas à região do corte. O enraizamento acontece em decorrência do acúmulo de AIA na porção imediatamente superior ao corte, já que o transporte polar de auxina é interrompido nessa região. Esse efeito pode ser intensificado ao se tratar a superfície do corte com uma solução de auxina. Esta pode ser aplicada por alguns dias ou semanas em concentrações baixas (na faixa de micromolar), ou por alguns segundos ou minutos em níveis mais elevados (na faixa de milimolar). A exposição rápida é feita no caso de macropropagação, quando estacas são enraizadas em solução de auxina concentrada ou em uma preparação a seco feita com talco como agente veiculador do regulador de crescimento. A auxina penetra na estaca, predominantemente, pelo corte e, uma vez absorvida pelas células, pode sofrer conversões. O AIA e, em menor grau, o AIB podem ser inativados irreversivelmente por oxidação, enquanto o ANA é menos susceptível a esse processo. Entretanto, essas três auxinas sofrem conjugação; assim, somente uma pequena parte (menos de 1%) da auxina absorvida pelo tecido permanecerá na forma livre ativa. O processo de enraizamento requer quantidades diferenciais de auxina, dependendo da fase organogênica. No início, a fase de indução requer a presença de uma concentração de auxina relativamente elevada, em comparação com a fase de crescimento. Na indução, a auxina age como o sinal para a inicialização da divisão celular e formação do novo meristema. Após a formação do primórdio radicular, a concentração de auxina, inicialmente favorável à sua indução, torna-se inibitória ao alongamento da raiz. Assim, o nível de auxina adequado à indução é supra-ótimo para a fase seguinte de crescimento. Para o enraizamento *in vitro* de microestacas caulinares de macieira, foi observado que a concentração de AIA no meio de cultura se reduz substancialmente, a partir do quinto dia, em razão da ação da enzima AIA-oxidase. Assim, nos primeiros dias de cultivo, o nível de AIA encontra-se relativamente elevado, induzindo a formação do primórdio radicular. Nos dias subsequentes ocorre uma diminuição dessa concentração no meio, acarretando um nível mais baixo de AIA. Entretanto, essa redução traz o nível de AIA para a faixa de concentração necessária ao alongamento do primórdio, após sua emergência do caule. Outras auxinas estudadas, como o AIB e o ANA, por serem mais estáveis, geraram concentrações supra-ótimas, inibindo o crescimento das raízes de macieiras.

Desenvolvimento de flores e frutos

A formação de flores e frutos é um evento importante para o desenvolvimento reprodutivo das plantas. Até o presente, não se conhece ao certo o papel das auxinas na formação de flores; na maioria dos casos estudados, a aplicação de auxina inibiu a produção de flores sob condições indutivas. Entretanto, essa inibição parece ser um efeito secundário, resultante da produção de etileno induzida pela auxina. Membros da família Brome-

liaceae apresentam uma resposta de floração intensa quando tratados com auxina (ANA). Esse efeito, todavia, hoje se sabe, é devido ao etileno, cuja formação é estimulada pela auxina. Em outros casos, a aplicação de baixas concentrações de auxina promove a formação de flores; entretanto, o significado fisiológico desse resultado é ainda desconhecido. É possível que as auxinas tenham alguma função em certos processos associados com a evocação floral, isto é, com processos que ocorrem no meristema caulinar durante a transição para o estágio reprodutivo.

Em botões florais de *Cucumis*, em estágio bissexual, a aplicação de auxina leva à formação de flores femininas, enquanto a aplicação de giberelina resulta na formação de flores masculinas. Mas, também nesse caso, existem evidências de que a auxina age por meio da produção de etileno. Apesar disso, é de aceitação geral que a auxina promove a feminilização em flores.

Normalmente, a polinização e a fertilização das flores são eventos necessários para iniciar o desenvolvimento do fruto (ou início do desenvolvimento do ovário). A presença de óvulos fertilizados garante o desenvolvimento do ovário em fruto. Foi observado que grãos de pólen representam uma fonte rica em auxina e giberelina, e que o extrato de pólen estimula o desenvolvimento de frutos em plantas da família Solanaceae não-polinizadas. O fenômeno do desenvolvimento do fruto na ausência de polinização é conhecido como *partenocarpia*, e os frutos assim formados não possuem sementes. Frutos partenocárpico são encontrados freqüentemente em plantas melhoradas, tendo nesse caso, portanto, um controle genético; ou eles podem ser induzidos artificialmente pela aplicação de reguladores de crescimento. Há evidências de uma correlação positiva entre o aumento dos níveis de auxina e giberelina no ovário, antes da fertilização, e o desenvolvimento de frutos partenocárpico. Foi observado que, em ovários de uma linhagem de tomateiro partenocárpico, os níveis endógenos de auxinas e giberelinas eram maiores do que os conteúdos encontrados na linhagem normal, isto é, com produção de sementes. Além disso, a aplicação de auxinas sobre a parte externa do ovário, antes da fertilização, em plantas das famílias

Solanaceae, Curcubitaceae e em *Citrus*, geralmente resulta no desenvolvimento de frutos partenocárpico. Levando em conta essas observações, há fortes evidências de que a partenocarpia seja resultante de uma regulação temporal e/ou espacial incorreta da síntese de auxina. Assim, uma ação seqüencial e cooperativa entre giberelina e auxina faz parte da cadeia de transdução de sinal que leva ao estabelecimento da formação do fruto e à subsequente ativação da divisão celular (ver Caps.18, Floração, e 19, Frutificação e Amadurecimento).

No desenvolvimento normal de frutos, é geralmente aceito o fato de que o desenvolvimento da semente (ou do embrião) controla a taxa e a manutenção da divisão celular no tecido do fruto. Se alguns óvulos não se desenvolvem em determinada parte do fruto, este se torna defeituoso (Fig. 9.29). Uma correlação positiva também existe entre o número de sementes e a manutenção do crescimento do fruto. O tamanho final do fruto é, em parte, resultante do número definido de divisões celulares que ocorrem no fruto em desenvolvimento depois da fertilização. Soma-se a isso o número inicial de células do ovário antes da fertilização, o número de fertilizações bem-sucedidas e o grau de expansão celular. Depois do período de divisão, o crescimento do fruto é resultante, principalmente, do aumento no volume celular. Na maioria dos frutos, o incremento de volume é o principal fator determinante do seu tamanho final. A expansão celular pode aumentar o tamanho inicial do ovário em cerca de 100 ou mais vezes. As auxinas são responsáveis pelo aumento na expansão celular em tecidos de frutos, embora, na maioria das vezes, a concentração de auxina seja maior na semente que nas células do fruto ao redor dela. As auxinas, provavelmente, causam um aumento na extensibilidade das paredes celulares, culminando com uma maior absorção e retenção de água e solutos. Entretanto, é possível que a semente em desenvolvimento e/ou o embrião produzam uma outra molécula sinalizadora, além da auxina, que regularia a expansão e a atividade de dreno das células do fruto circunvizinhas às sementes. A ação conjunta de ambas as moléculas induziria o aumento de volume.

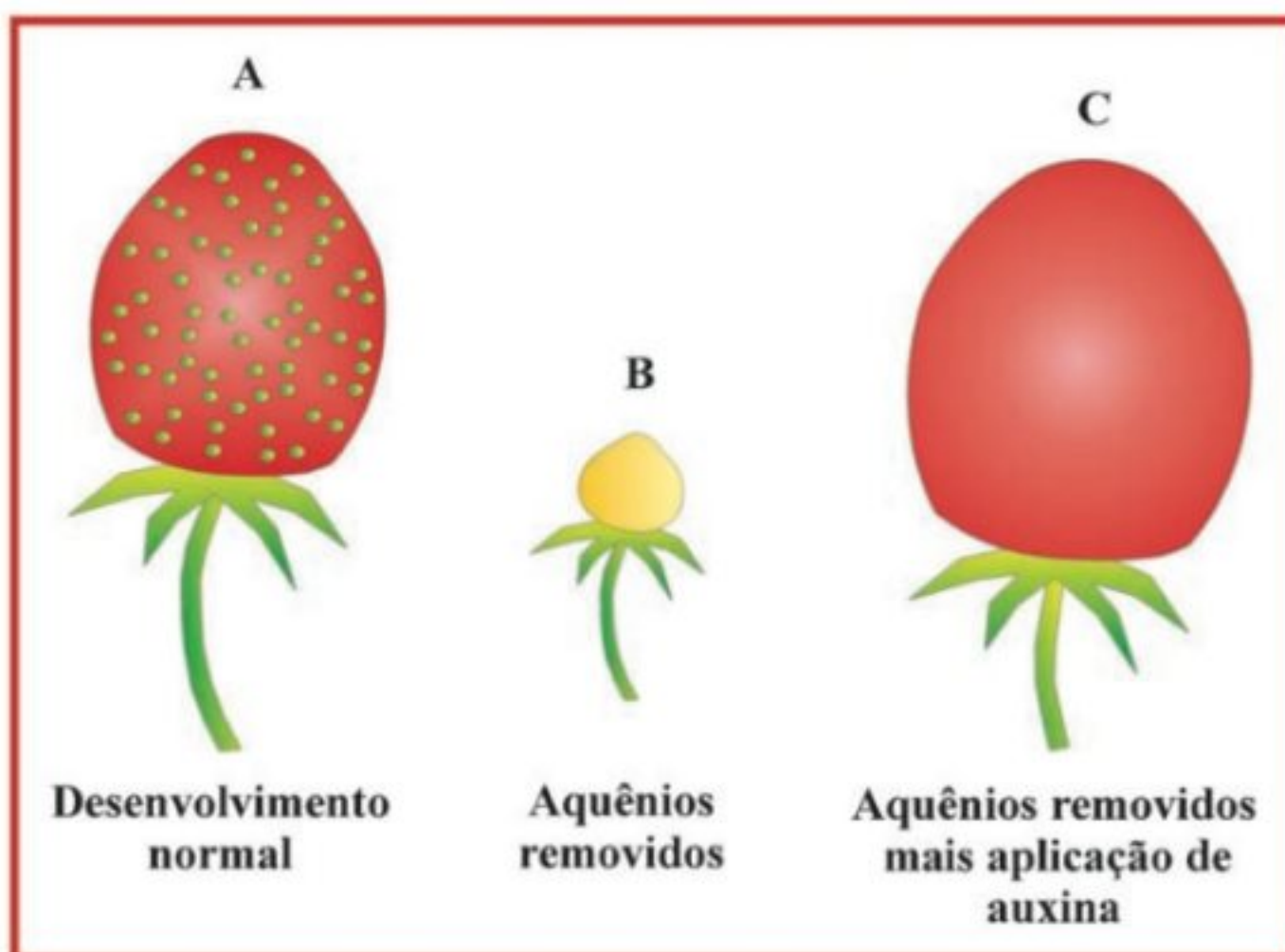


FIGURA 9.29

Receptáculo de morango (pseudofruto), cujo crescimento é regulado pela auxina produzida pelos aquênios (pequenos frutos secos) (A). Receptáculo cujos aquênios foram removidos não se desenvolve (B), porém, se for pulverizado com uma solução de AIA, readquire o crescimento (C).

**FIGURA 9.30**

Prática do raleio da cultura da macieira por meio da pulverização de auxina realizada na Estação Experimental de São Joaquim — EPAGRI — de Santa Catarina. Frutificação efetiva (A); efeito da aplicação da auxina ANA, reduzindo o número de frutos em desenvolvimento. A aplicação do ANA (10 mg/l) foi feita de 5 a 10 dias após a plena floração (B e C); macieira que sofreu o raleio, permanecendo somente um fruto por cacho floral (D).

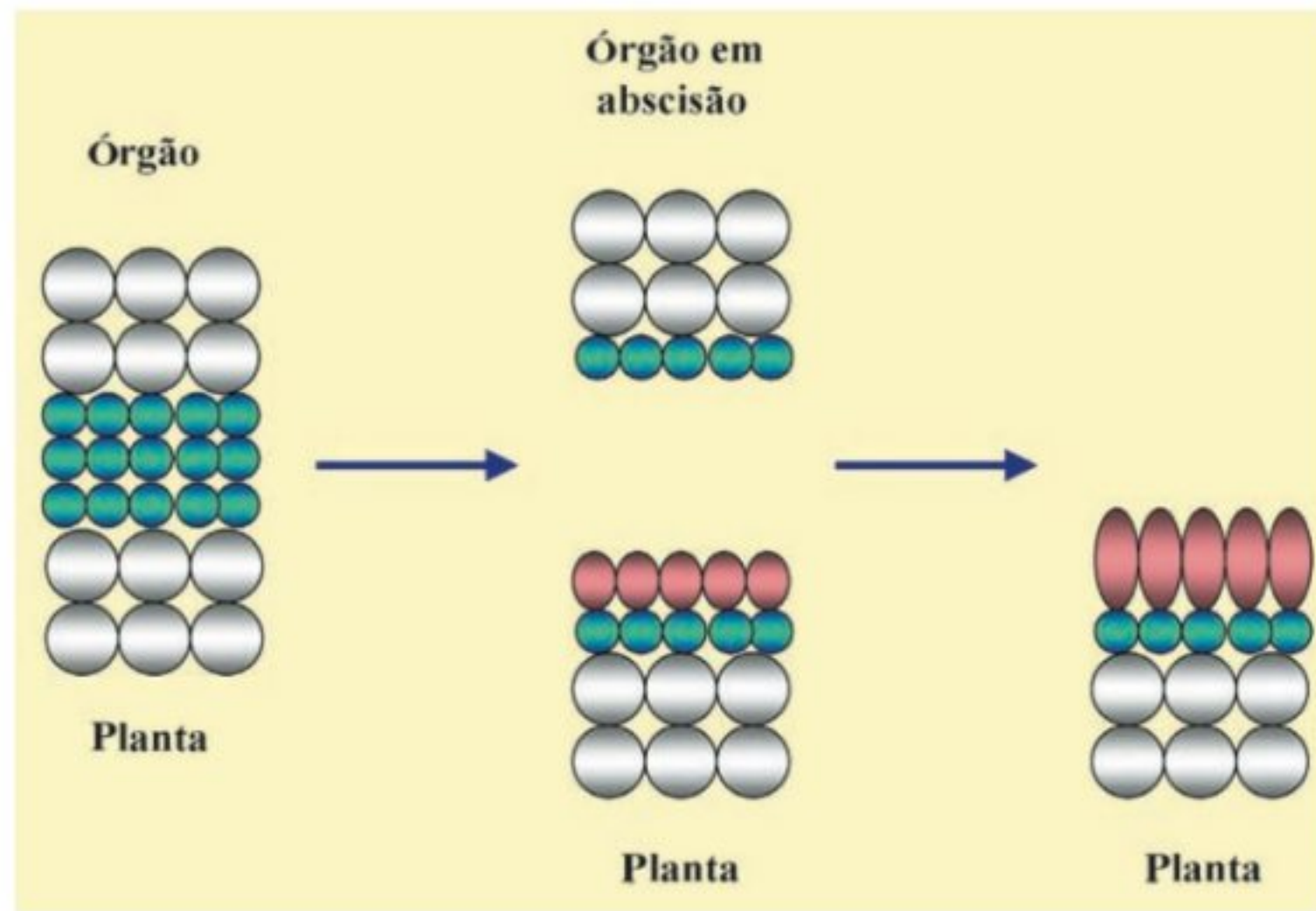
A auxina sintética ANA é comumente usada na agricultura para rarear árvores com frutos em início de desenvolvimento e, também, para prevenir a queda precoce deles em macieiras e pereiras. Esses efeitos, aparentemente opostos, são dependentes da aplicação de auxina em fases determinadas do desenvolvimento do fruto. Procedendo-se à aspersão de auxina no início do estabelecimento do fruto, há o aumento da abscisão deste ainda bem jovem. Esse efeito é devido ao aumento da síntese de etileno. Um dos motivos dessa prática, conhecida por *raleio*, é reduzir o número de frutos por árvore, permitindo que os remanescentes cresçam mais (Fig. 9.30). Ao contrário, fazendo a aspersão mais tardiamente, quando o fruto já está na fase de maturação, a aplicação de auxina tem efeito oposto, isto é, previne a queda prematura do fruto e o mantém na árvore até seu completo desenvolvimento, estando, assim, pronto para a colheita.

Abscisão foliar

Durante o desenvolvimento normal, as plantas perdem folhas, flores e frutos por meio de um processo conhecido por abscisão. Esse mecanismo é importante para a planta remover órgãos senescentes, ou injuriados, ou, ainda, como uma estratégia para liberar os frutos quando amadurecidos.

A abscisão ocorre, na maioria dos casos, numa camada de células anatomicamente distinta denominada de zona de abscisão. Como, por exemplo, em folhas, em que ela está localizada na base do pecíolo, isto é, entre o órgão a ser removido e o corpo da planta. Essa camada é originada durante o desenvolvimento do órgão associado. A zona de abscisão varia quanto à sua espessura, podendo ser constituída por poucas até muitas camadas de células. Essas são normalmente caracterizadas como uma banda de células pequenas, com denso conteúdo citoplasmático. Sob condições apropriadas do meio ambiente ou do desenvolvimento, células da zona da abscisão começam a se expandir e, então, inicia-se a dissolução da lamela média, resultando no aparecimento de um plano de fratura e, conseqüentemente, na queda do órgão. Um tecido de cicatrização suberificado surge no corpo da planta, no local onde houve a abscisão do órgão (Fig. 9.31) (Bleecker & Patterson, 1997).

Estudos realizados com folhas pecioladas de feijoeiro, isto é, contendo a zona de abscisão, mostraram que o etileno e a auxina controlam o processo da abscisão. Verificou-se que o etileno representava o sinal primário que dirigia esse processo, enquanto a auxina reduzia a sensibilidade das células da zona de abscisão ao etileno, prevenindo ou retardando a abscisão. Os níveis endógenos de auxina eram mais elevados em folhas jovens,

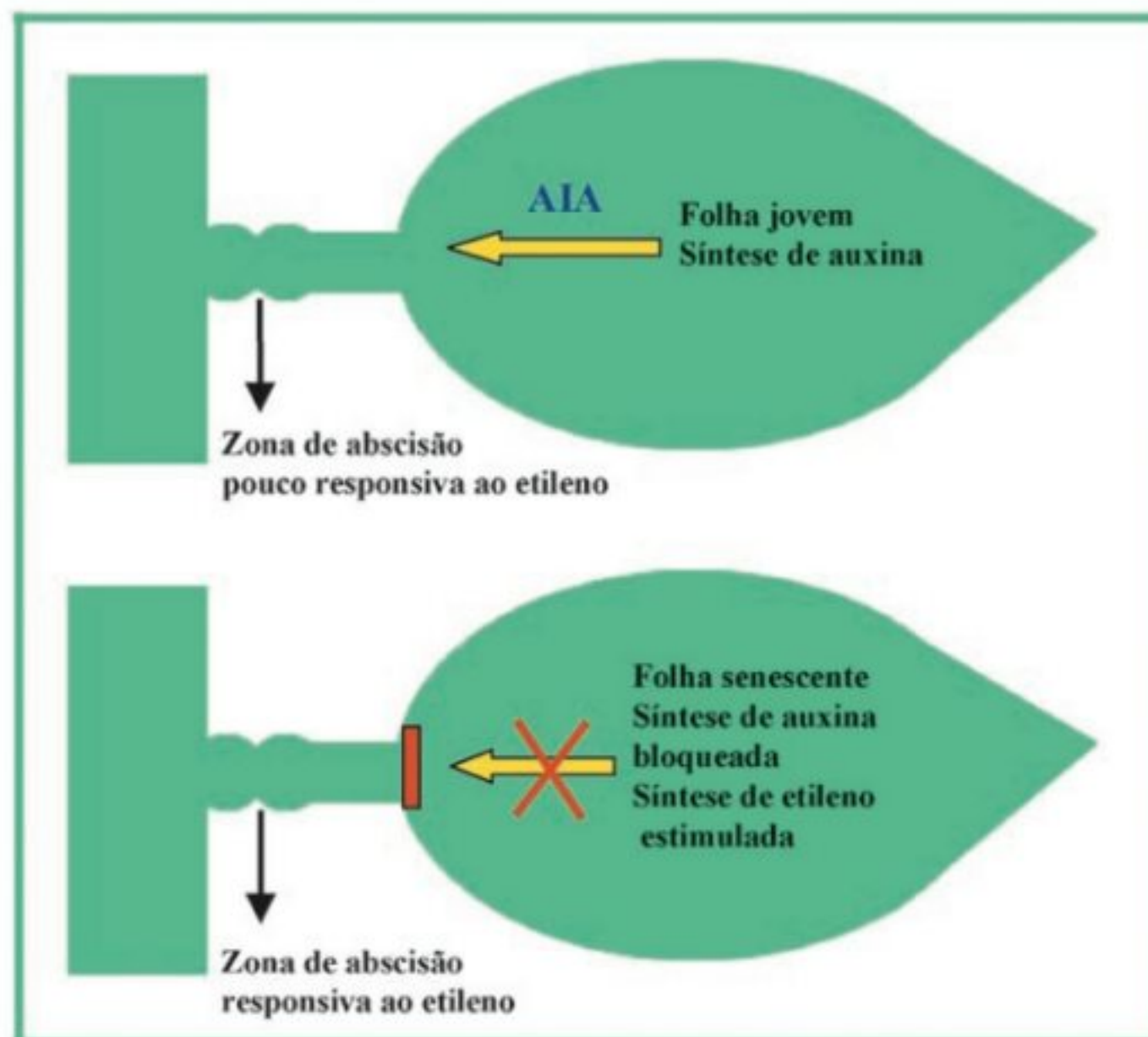
**FIGURA 9.31**

Representação esquemática dos eventos associados com a abscisão de um órgão. Círculos verdes representam células da zona de abscisão; círculos brancos representam células grandes, com vacúolos, do tecido maduro; figuras ovais vermelhas representam células expandidas que se rediferenciam (transdiferenciação) em periderme suberificada (camada de cicatrização).

decrecendo progressivamente nas maduras, até praticamente desaparecerem nas folhas senescentes.

A aplicação de AIA em estágios iniciais da abscisão foliar geralmente atrasa a queda da folha; todavia, quando é feita em estágios mais avançados do desenvolvimento, ela acelera esse

processo, provavelmente pela indução da síntese de etileno. Há indícios de que as folhas jovens são menos responsivas ao etileno do que as mais velhas; além disso, a presença de teores elevados de auxina nas folhas jovens reduz a sensibilidade da zona de abscisão ao etileno (Fig. 9.32).

**FIGURA 9.32**

Esquema representativo dos efeitos induzidos pela auxina e etileno presentes em folhas jovem (A) e senescente (B).

Ação herbicida de auxinas sintéticas

As auxinas sintéticas, como o 2,4-D, o dicamba e o picloram, por exemplo (Fig. 9.4), quando em concentrações adequadas, apresentam atividade herbicida, sendo amplamente empregadas para esse fim. Em baixas concentrações, induzem respostas de crescimento comparáveis ao AIA. Esses compostos são comumente empregados no controle de ervas daninhas (dicotiledôneas) em plantações de gramíneas. A utilização ampla desses herbicidas é devida ao alto grau de fitotoxicidade, custo relativamente baixo e às suas propriedades seletivas.

Essas auxinas causam epinastia das folhas, parada do crescimento caulinar e radicular e aumento da expansão radial. Após alguns dias, podem surgir tumores, seguidos por um amolecimento e colapso do tecido. Tanto a epinastia quanto o aumento da espessura dos caules são efeitos característicos do hormônio etileno; assim, espera-se que a síntese de etileno, induzida por essas auxinas, seja o fator responsável por esses efeitos. O etileno, por sua vez, estimula a biossíntese do ácido abscísico (ABA) que se acumula primeiramente na folha e, depois, é transportado para toda a planta. O ABA inibe o crescimento por meio do fechamento estomático, limitando, portanto, a assimilação do carbono e, conseqüentemente, a produção de biomassa. Além disso, esse hormônio tem efeito inibitório sobre a divisão e alongamento celular. Ao final, o ABA, em conjunto com o etileno, promove a senescência e a morte da folha e, posteriormente, do vegetal como um todo (Grossmann, 2000). Em experimentos nos quais se empregaram inibidores da síntese de etileno em várias dicotiledôneas ou se utilizaram mutantes insensíveis ao etileno de tomateiro e *Arabidopsis thaliana*, verificou-se que o efeito herbicida de auxinas era muito reduzido ou mesmo ausente nessas condições.

Apesar de intensas pesquisas visando desvendar como esses herbicidas agem, seu mecanismo de ação ainda é controverso. Um aspecto comum da atividade herbicida das auxinas sintéticas está relacionado com uma forte perturbação no metabolismo de RNAs. Certos RNAs mensageiros específicos são induzidos pelo tratamento com auxina, e, nesse caso, o etileno aparentemente não afeta a expressão desses mesmos RNAs. Além disso, sabe-se também que plantas resistentes ao herbicida possuem um nível mais elevado de RNA em comparação às plantas sensíveis.

MECANISMO DE AÇÃO

Conforme visto até agora, a auxina exerce um papel fundamental em uma vasta gama de processos de crescimento e desenvolvimento. Em nível celular, esse fitormônio age como sinal para a divisão, alongamento e diferenciação durante o curso normal do ciclo vegetal. Tomando-se a planta como um todo, a auxina tem uma função importante na formação de raízes, na dominância apical, no tropismo, na senescência, dentre outros processos. A questão crucial é saber como uma molécula simples, como o AIA, regula essa considerável diversidade de respostas de um conjunto de células, tecidos ou de órgãos. A resposta a essa dúvida requer

conhecimentos sobre como esse hormônio é percebido, como ocorre a transdução do seu sinal e como se processa a regulação dos genes responsivos à auxina.

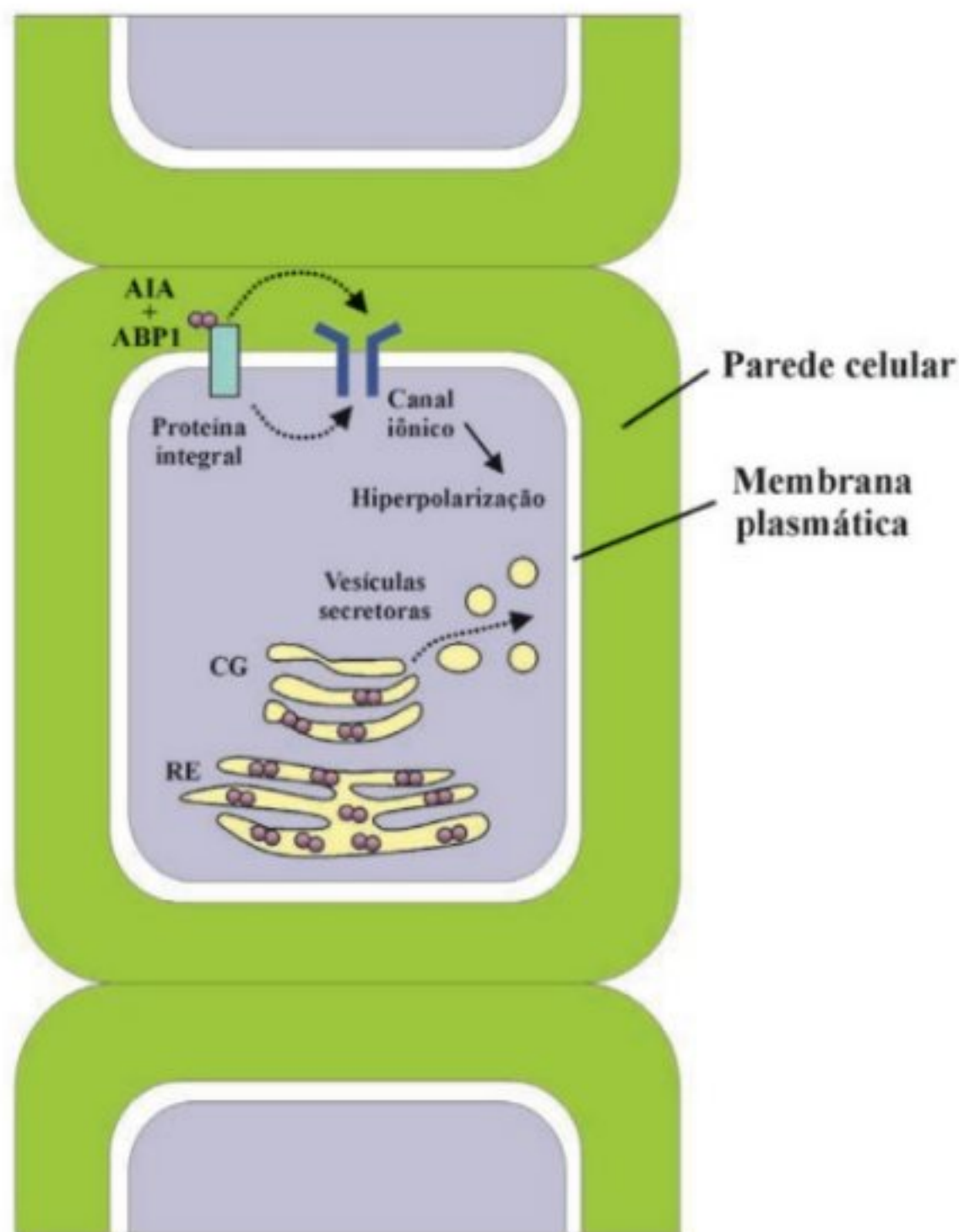
Percepção

Pesquisas recentes apontam para a existência de duas proteínas candidatas a serem receptoras de auxina: a ABP1 (do inglês *auxin binding protein 1*) e a proteína TIR1 (do inglês *transport inhibition response*). A ABP1 foi caracterizada e clonada a partir de plantas de milho, sendo posteriormente encontrada também em vários outros vegetais. A proteína ABP1 não possui regiões hidrofóbicas típicas de proteínas de membrana; assim sendo, a ABP1 deve provavelmente associar-se a uma outra proteína da membrana plasmática (proteína integral de membrana), propagando o sinal hormonal para o interior da célula (Fig. 9.33). A auxina, quando ligada à ABP1, induz uma mudança conformacional nesta, permitindo a interação do conjunto assim formado (auxina + proteína receptora) com a proteína de membrana, a qual, então, transmite o sinal da auxina para o interior da célula, causando, por exemplo, a hiperpolarização da membrana celular. É possível também que a própria ABP1 ligada à auxina interaja diretamente com canais iônicos da membrana.

Ao contrário do que se poderia imaginar, a maior parte da ABP1 está localizada no retículo endoplasmático (RE), e não na membrana plasmática, aparecendo também no complexo de Golgi (CG). Uma conseqüência dessa distribuição é que um número pequeno de receptores na superfície celular necessita de uma menor quantidade de auxina para interagir com todos eles, permitindo à célula ser mais sensível a baixos níveis hormonais. As proteínas ABP1 localizadas no RE e CG, ao receberem a auxina, interagem com proteínas integrais de membrana dessas organelas, possivelmente causando a regulação da secreção de componentes de parede (polissacarídeos e glicoproteínas) necessários à célula em expansão (Fig. 9.33).

Foram obtidas plantas transgênicas de tabaco com superexpressão constitutiva do gene *abp1*. Nesse material, foi observado que o tamanho das células foliares era triplicado, embora o fenótipo da planta como um todo permanecesse inalterado, indicando assim que a ABP1 tem sua função relacionada ao controle do alongamento celular. Investigação recente revelou que ABP1 está também envolvida com o controle do ciclo celular, provavelmente mediando a ação da auxina (David *et al.*, 2007). A inativação funcional da ABP1 resultou na parada do ciclo em células cultivadas *in vitro* de tabaco. Há evidências de que a ABP1 tem uma função crítica, agindo tanto na passagem G₁/S quanto na G₂/M do ciclo celular. Assim, é provável que a ABP1 esteja relacionada com dois processos chave do desenvolvimento vegetal: crescimento associado com divisão e expansão celular.

Recentemente, dois grupos de pesquisadores identificaram outro receptor de auxina, que foi denominado TIR1 (Badescu & Napier, 2006). O gene *tir1* foi clonado, primeiramente, em plantas de *Arabidopsis* tolerantes a inibidores de transporte de auxina, como o ácido naftilftalâmico (NPA), e daí vem sua denominação “Resposta de Inibição de Transporte” — TIR. Entretanto, logo se

**FIGURA 9.33**

Modelo representativo das possíveis localizações do receptor de auxina ABP1 na célula vegetal e os efeitos associados à sinalização do AIA.

verificou que a proteína TIR1 (pertencente à família de proteínas F-box de *Arabidopsis* que tem cerca de 700 membros) não estava envolvida com o transporte, mas sim com o mecanismo de ação de auxina. Foi demonstrado que TIR1 possui afinidade e especificidade para auxina, diferindo da ABP1 por ser uma proteína solúvel de localização nuclear, portanto iniciando respostas à auxina intracelular. A família protéica TIR1 faz a conexão direta entre auxina e controle da expressão de genes responsivos a esse hormônio (ver item *Transdução*, a seguir).

Transdução

Os caminhos de transdução de sinal da auxina são pouco conhecidos. Após a interação com o receptor, o sinal hormonal deve ser conduzido dentro da célula, através de uma das numerosas vias alternativas, sendo a resposta final dependente de um caminho ou de uma combinação de várias rotas. Ao invés de se ter uma via simples e linear de transdução de sinal, as moléculas sinalizadoras formam redes complexas de rotas interconectadas.

O cálcio parece ser um mensageiro secundário importante na transdução de sinal de quase todos os hormônios; contudo, a sua função na intermediação da ação da auxina ainda não foi determinada. Há fortes evidências experimentais de que a auxina afeta o nível de cálcio livre intracelular, aumentando-o. Além

disso, foi visto que a interação do cálcio com a proteína citossólica calmodulina está diretamente envolvida com a transdução de sinal da auxina no processo de alongamento celular. Da mesma forma, o potássio está intimamente ligado à expansão das células mediada por auxina.

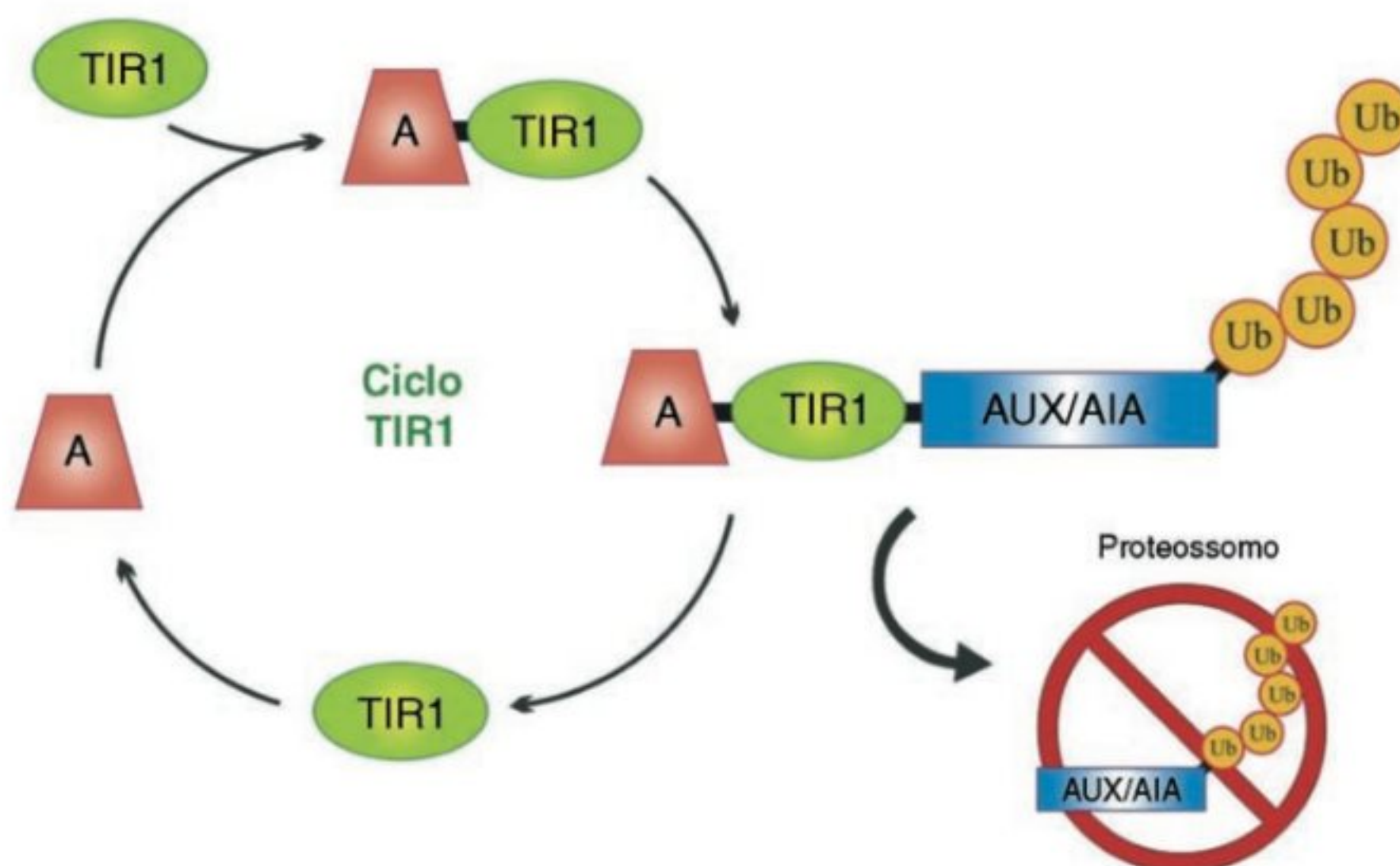
Há ainda evidências de que proteínas-G (pertencentes à super-família de GTP-ases) da membrana plasmática participem da transdução de sinal da auxina. Foi observado, em coleótilos de arroz, que o tratamento com auxina dobrava a quantidade dessa proteína em sua forma ativa, isto é, ligada a GTP, passando, então, a induzir positivamente outras enzimas, como a fosfolipase C.

No processo de divisão celular, a auxina também parece agir através da ativação de proteínas-G. Durante esse evento, pode ocorrer o envolvimento de cinases do tipo MAPK (do inglês *mitogen-activated protein kinase*), que são ativadas na presença de auxina, iniciando uma cascata de reações de fosforilação. Além disso, sabe-se que a auxina participa da regulação do ciclo celular, primariamente estimulando a síntese de uma cinase dependente de ciclina, a CDK/a, cuja atividade é também regulada por fosforilação. Um outro exemplo de transdução de sinal da auxina é o da regulação da degradação protéica.

Depois que a auxina se acopla ao receptor TIR1 (Fig. 9.34), desencadeia-se a ativação de uma via de degradação protéica mediada por ubiquitina, via essa comum a todas as células eucarióticas. Esse sistema de degradação compreende um tipo de marcação da proteína a ser destruída, a qual se conjuga a pequenas proteínas chamadas de ubiquitina. Essa conjugação requer ATP e é realizada por meio de uma via multienzimática. Uma vez marcada, a proteína a ser destruída vai para o proteossomo nuclear (complexo protéico oligomérico extremamente grande, com massa molecular em torno de 1,5 megadalton). Um importante exemplo dessa via de degradação é a destruição de fatores de transcrição conhecidos por AUX/AIA (ver o próximo item, *Expressão gênica*), que são rapidamente degradados no proteossomo (Fig. 9.34). A destruição de AUX/AIA leva à desrepressão de genes de resposta primária à auxina, já que esse fator de transcrição bloqueia a região promotora desses genes (ver o próximo item, *Expressão gênica*). A diversidade e a especificidade tecidual dos fatores de transcrição do tipo AUX/AIA podem explicar, em parte, as múltiplas respostas auxina-específicas.

Expressão gênica

Sejam quais forem os receptores e as rotas de transdução de sinal, a aplicação de auxina pode, rápida e especificamente, alterar a expressão de determinados genes em diferentes tecidos e órgãos. Respostas de modificação da expressão podem ser detectadas em questão de minutos ou em poucas horas após a aplicação de auxina. Os genes que são ativados ou inibidos nesse curto espaço de tempo são conhecidos por genes de resposta primária (do inglês *early genes* ou *primary response genes*); vários deles já foram identificados e caracterizados. A expressão desses genes é induzida pela ativação de fatores de transcrição (proteínas que se ligam à região promotora do gene, facilitando sua transcrição)

**FIGURA 9.34**

Modelo para o ciclo TIR1. A auxina (A) se liga ao receptor TIR1, ativando-o e, por consequência, iniciando a ubiquitinação dos fatores de transcrição AUX/AIA. Essas proteínas, uma vez marcadas por uma série de ligações com ubiquitina, vão ser degradadas no proteossomo. A diminuição de AUX/AIA acarreta a desrepressão de genes responsivos à auxina e o aumento da transcrição de genes regulados por AIA.

já presentes na célula no momento da exposição à auxina. Isso implica que todas as proteínas necessárias à indução da expressão dos genes de resposta primária estejam presentes na célula, razão pela qual a expressão acontece em curto intervalo de tempo.

De modo geral, os genes de resposta primária possuem três funções principais: (1) codificar proteínas que controlam a transcrição de genes de resposta secundária (do inglês *late genes* ou *secondary response genes*), isto é, essas proteínas são fatores de transcrição de genes cuja expressão é modificada pela auxina em intervalo de tempo maior, comparativamente aos genes primários; (2) codificar proteínas que atuam na comunicação intercelular; e (3) codificar proteínas que atuam na adaptação ao estresse.

Foram descritas ao menos 5 classes de genes de resposta primária: as famílias gênicas *aux/aia*, *saur*, *gh3*, os genes que codificam a sintase do ACC (enzima-chave para a biossíntese do etileno) e genes que codificam glutatona S-transferases. Os genes da família *aux/aia* codificam fatores de transcrição de curta duração, com localização nuclear, que têm a função de ativar ou reprimir genes de resposta secundária à auxina. Os genes das famílias *saur* e *gh3* estão relacionados com tropismos e com respostas da auxina reguladas por luz, respectivamente. Os genes que codificam S-transferases da glutatona e sintase do ACC estão relacionados com adaptação ao estresse.

Baseado em algumas evidências experimentais, foi proposto, recentemente, um modelo sobre a regulação da expressão gênica por auxina (Leyser, 2002). A Fig. 9.35 mostra a participação da auxina no controle da ativação da transcrição de um gene de resposta primária à auxina (por exemplo, *aux/aia*) por dois tipos de fatores de transcrição: AUX/AIA e ARF, isto é, por um fator de

resposta à auxina (ARF, do inglês *auxin response factor*). Segundo esse modelo, os ARFs ocupam permanentemente a região promotora de genes de resposta primária à auxina, independentemente do nível de auxina. Essa região contém uma seqüência específica de 6 pares de bases, TGTCTC, conhecida pela denominação de elemento de resposta à auxina (AuxRE, do inglês *auxin response element*). Quando a concentração de auxina se encontra baixa nas células, as proteínas AUX/AIA estão estáveis, formando um heterodímero com o ARF na região promotora, bloqueando, em última instância, a transcrição gênica. Quando os níveis de auxina aumentam, as proteínas AUX/AIA desestabilizam-se e são degradadas pelo processo de ubiquitinação, que culmina com a ação de proteases. A redução na quantidade de proteínas AUX/AIA permite que as proteínas ARFs se dimerizem, ativando a expressão dos genes regulados positivamente por auxinas. Foi observado que os genes de resposta primária podem ser rapidamente ativados em 2 a 5 minutos após a aplicação de auxina.

Dessa maneira, genes de resposta primária são transcritos, incluindo os genes *aux/aia*, introduzindo um controle por retroalimentação negativa ao sistema. Isso acarreta uma ativação transitória desses genes, que voltam a ser bloqueados depois de certo tempo, quando, provavelmente, os níveis de auxina também se reduzem. Entretanto, se, por meio de uma aplicação de auxina, os teores desse hormônio permanecerem elevados, a ativação da transcrição dos genes de resposta primária pode durar longos períodos (horas).

Alternativamente, os ARFs poderiam também atuar como repressores de genes responsivos à auxina, os quais são regulados negativamente por altas concentrações de auxina. Nesse caso, a

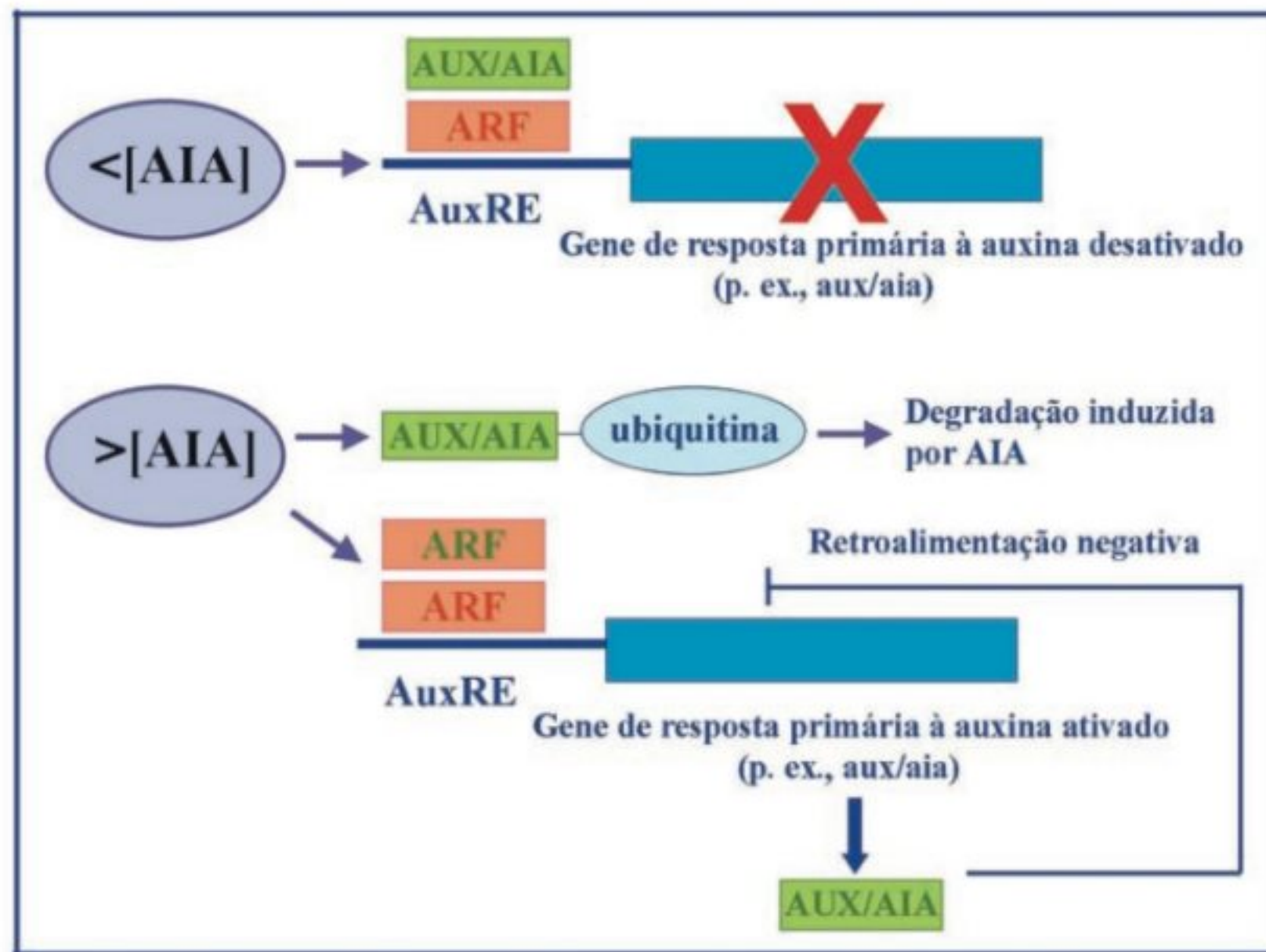


FIGURA 9.35

Modelo de regulação da transcrição de genes de resposta primária à auxina por dois tipos de fatores de transcrição: proteínas AUX/AIA e por fatores de resposta à auxina (ARFs).

presença de um homodímero de ARF na região AuxRE do gene não permitiria sua transcrição.

Assim, a caracterização recente de algumas proteínas envolvidas na transdução do sinal da auxina permite vislumbrar uma rede complexa e ainda pouco compreendida. Certamente, a elucidação das funções de cada um dos genes (e respectivas proteínas), relacionando-os com a fisiologia celular, auxiliará a compreender como as células se comunicam e cooperam ao longo do crescimento e desenvolvimento vegetal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a colaboração na execução das figuras à aluna de pós-graduação Cássia Ayumi Takahashi, assim como a permissão do uso das fotografias à Profa. Dra. Nanuza Luiza de Menezes (Fig. 9.27), ao Dr. Adilson José Pereira (Fig. 9.30), ao Prof. Dr. Gregório C. T. Ceccantini (Fig. 9.12) e à Dra. Beatriz Maia Souza (Fig. 9.24).

REFERÊNCIAS

- Aloni R, Aloni E, Langhans M, Ullrich, CI. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Annals of Botany*, 2006; 97:883-893.
- Badescu GO, Napier RM. Receptors for auxin: will it all end in TIRs? *Trends In Plant Science*, 2006; 11:217-223.
- Bartel B. Auxin biosynthesis. *Annu Rev Plant Mol Biol*, 1997; 48:51-66.
- Bartel B, Leclere S, Magidin M, Zolman BK. Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: de novo synthesis, conjugate hydrolysis, and indole-3-butyric acid b-oxidation. *J Plant Growth Regulation*, 2001; 20:198-216.
- Berleth T, Scarpella E, Prusinkiewicz P. Towards the systems biology of auxin-transport-mediated patterning. *Trends in Plant Science*, 2007; 12:151-159.
- Bleecker AB, Patterson S. Last exit: senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 1997; 9:1169-1179.
- Boer BGW, Den & Murray JAH. Triggering the cell cycle in plants. *Trends in Cell Biology*, 2000; 10:245-250.
- Cosgrove DJ. Relaxation in a high-stress environment: the molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. *The Plant Cell*, 1997; 9:1031-1041.
- David KM, Couch D, Braun N, Brown S, Grosclaude J, Perrot-Rechenmann. The auxin-binding protein 1 is essential for the control of cell cycle. *The Plant Journal*, 2007; 50:197-206.
- Fukuda H. Tracheary element differentiation. *The Plant Cell*, 1997; 9:1147-1156.
- Grossmann K. Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long drawn out story. *Trends in Plant Science*, 2000; 5:506-508.
- Inzé D. Green light for the cell cycle. *The EMBO Journal*, 2005; 24:657-662.
- Kutschera U. Cell expansion in plant development. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 2000; 12:65-95.
- Leyser O. Molecular genetics of auxin signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2002; 53:377-398.
- Muday GK. An emerging model of auxin transport regulation. *The Plant Cell*, 2002; 14:293-299.
- Nelson T, Dengler N. Leaf vascular pattern formation. *The Plant Cell*, 1997; 9:1121-1135.
- Normanly J, Bartel B. Redundancy as a way of life — IAA metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 1999; 2:207-213.
- Philippar K, Fuchs I, Lüthen H, Hoth S, Bauer CS, Haga K, Thiel G, Ljung K, Sandberg G, Böttger M, Becker D, Hedrich R. Auxin-

- induced K^+ channel expression represents an essential step in coleoptile growth and gravitropism. *PNAS*, 1999; 96:12186-12191.
- Ross J, O'Neill D. New interactions between classical plant hormones. *Trends in Plant Science*, 2001; 6:2-4.
- Souza BM, Kraus JE, Endres L, Mercier H. Relationships between endogenous hormonal levels and axillary bud development of *Ananas comosus* nodal segments. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003; 41(8):733-739.

Citocininas

Lázaro E. P. Peres e Gilberto B. Kerbauy

INTRODUÇÃO

Nenhuma outra classe hormonal parece estar tão de perto ligada à biotecnologia de plantas como a das citocininas (Cks). Processos biotecnológicos como a rápida obtenção de plantas homozigotas a partir da produção de haplóides *in vitro*, a obtenção de híbridos entre espécies incompatíveis através da fusão de protoplastos e a própria produção de plantas transgênicas* têm em comum a necessidade de controlar a divisão e a diferenciação celular *in vitro*, processos esses dependentes do emprego de citocininas. Certamente, para a maioria da população, o lado mais visível da biotecnologia vegetal é representado pela clonagem *in vitro* e seus produtos gerados, as assim denominadas “plantas de proveta”.

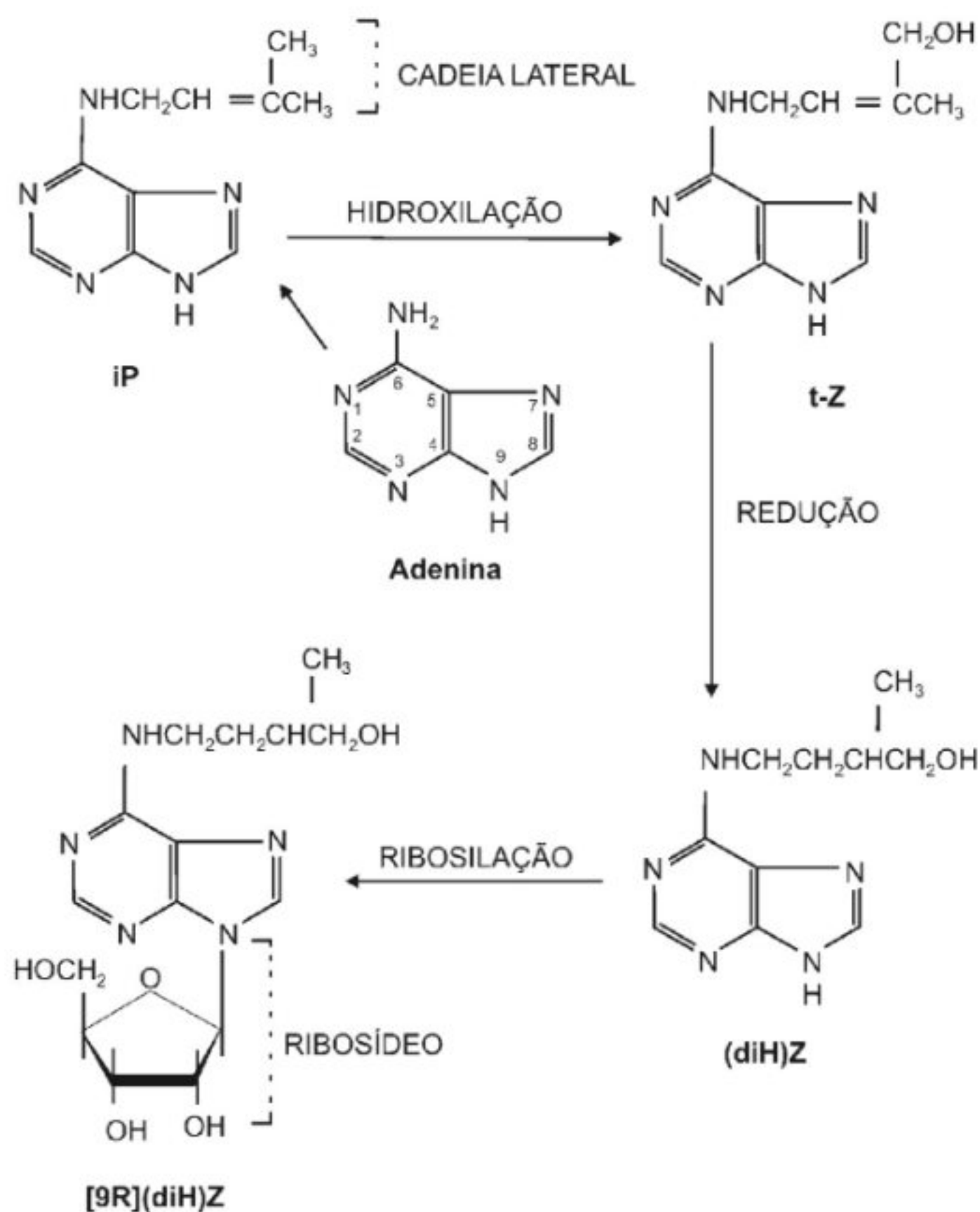
Durante a década de 1950, a equipe do Dr. Folke Skoog, da Universidade de Winsconsin (Estados Unidos), estava à procura de uma substância que fosse responsável pela divisão celular em vegetais, utilizando nessa abordagem, como modelo experimental, o cultivo de medula de tabaco *in vitro*. Nessa época, já se conhecia o ácido indolil-3-acético (AIA), uma auxina isolada em 1934. A equipe já sabia, por exemplo, que, quando o AIA era utilizado em meios nutritivos juntamente com constituintes complexos, como extrato de levedura e água de coco, ocorria uma intensa proliferação das células da medula, o que levou a admitir a existência, nessas substâncias, de algo também essencial à divisão celular. Essa substância foi finalmente isolada por Carlos Miller em 1955, um colaborador de Folke Skoog, e denominada cinetina (Miller *et al.*, 1955). A cinetina era formada a partir das bases nitrogenadas presentes no esperma de arenque, sendo liberada à medida que este envelhecia, processo esse que

podia ser acelerado quando o material era submetido a autoclave. O grupo do Dr. Skoog constatou que medula de tabaco, quando submetida apenas a 2 mg/L de AIA, apresentava, fundamentalmente, expansão das células e um pequeno aumento do peso. Todavia, suas células mostravam-se incapazes de entrar em divisão celular, a não ser que a cinetina fosse adicionada ao meio de cultura. Embora a adição de 100 µg/L de cinetina promovesse apenas um pequeno aumento do peso em relação ao controle, era suficiente para aumentar cerca de 30 vezes o número de células. A denominação de cinetina decorreu do fato de essa substância atuar sobre o processo de citocinese. Em seguida, Skoog *et al.* propuseram o termo citocinina para compostos com atividade biológica igual à cinetina, ou seja, aqueles capazes de promover a citocinese em células vegetais (Skoog *et al.*, 1965). Uma definição equivalente para citocininas foi proposta por Hall (1973), como sendo substâncias que promovem o crescimento e a diferenciação em cultura de calo (aglomerado de células).

Como se vê, a presença de atividade de citocininas num extrato vegetal, ou a designação de um composto sintético como sendo uma citocinina, refere-se ao crescimento produzido em um pedaço de tecido ou calo cultivado num meio otimizado contendo auxina. Isso posto, a classificação de um composto como sendo uma citocinina é baseada no seu efeito fisiológico, e não em um critério químico.

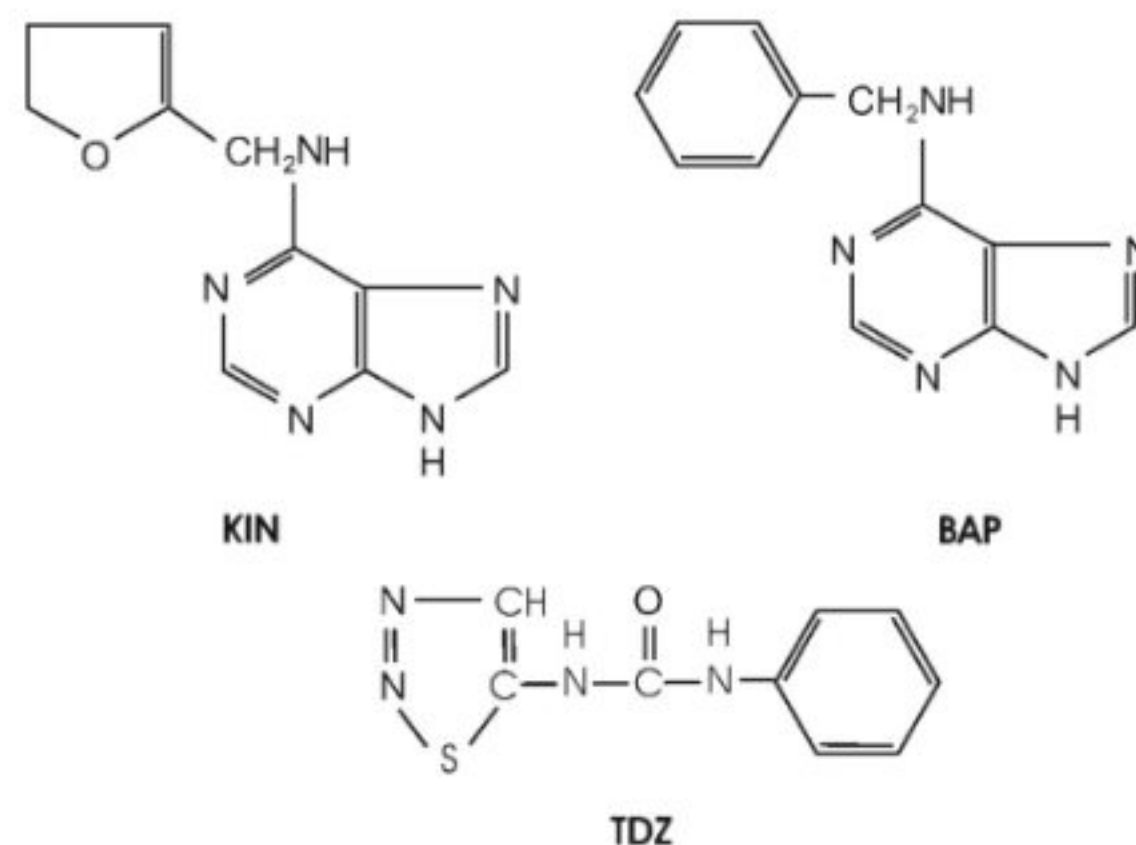
É interessante notar que, embora a descoberta e a conceituação de citocinina tenha ocorrido a partir de uma substância artificial descoberta na década de 1950, a primeira citocinina natural em plantas só foi isolada 20 anos mais tarde, por David Letham, em extrato de milho verde (*Zea mays*), denominando-a de zeatina (Letham, 1973). A zeatina é, na verdade, um composto conhecido como 6-(γ-metil-γ-hidroximetilalilamino)-purina, sendo, portanto, derivado de uma base púrica (adenina), como também é o caso da cinetina (6-furfurilaminopurina). Uma das explica-

*Excelentes revisões sobre biotecnologia de plantas podem ser encontradas em Torres, Caldas & Buso, 1999.

**FIGURA 10.1**

Estrutura das principais citocininas que ocorrem naturalmente nos tecidos vegetais. Todas as citocininas naturais são derivadas de adenina. Isopenteniladenina – iP; *trans*-zeatina – t-Z e diidrozeatina – (diH)Z são consideradas formas livres desses hormônios. Zeatina e diidrozeatina são geradas por modificações na cadeia lateral, envolvendo reações de hidroxilação e redução, respectivamente. As três formas podem se ligar a um açúcar, a ribose (ribosilação), formando, respectivamente, isopenteniladenosina – [9R]iP; *trans*-zeatina ribosídeo – t-[9R]Z e diidrozeatina ribosídeo – [9R](diH)Z, cuja estrutura está representada na figura.

ções para a liberação de cinetina a partir de esperma de arenque é o fato de esse material ser rico em DNA, importante fonte de bases nitrogenadas. Desse modo, o termo citocininas inclui a cinetina (KIN) ou 6-furfurilaminopurina; a 6-benzilaminopurina (BAP) ou 6-benzildenina; a isopenteniladenina (iP) ou 6-(γ,γ -dimetilalilamino)-purina; a zeatina (Z) ou 6-(γ -metil- γ -hidroximetilalilamino)-purina e seus derivados. Contudo, o termo citocinina não se limita apenas aos derivados de adenina com substituição na posição do carbono 6 da molécula (6-substituídos), pois algumas feniluréias, como o thidiazuron, também possuem atividade citocinínica (Thomas & Katterman, 1986). As estruturas das principais citocininas naturais e sintéticas são apresentadas nas Figs. 10.1 e 10.2. Na nomenclatura proposta por Letham & Palni (1983), e que será empregada neste capítulo, os substituintes do anel purínico são representados com colchetes: ex.: [9R]Z, o qual representa uma zeatina com uma molécula de ribose na posição 9 do anel purínico. De modo semelhante, os substituintes da cadeia lateral são representados com parênteses: ex.: (diH)Z, o qual nada mais é do que uma zeatina com a cadeia lateral reduzida (perda da dupla ligação).

**FIGURA 10.2**

Estrutura das principais citocininas sintéticas. A cinetina (KIN) e a benzilaminopurina (BAP) possuem um anel de purina (adenina) igual ao das citocininas naturais (Fig. 10.1). O thidiazuron (TDZ) é uma citocinina do tipo feniluréia que difere bastante da estrutura das citocininas naturais pela ausência da base nitrogenada (adenina).

Como se verá adiante, as citocininas são compostos que, além de serem essenciais à citocinese, também promovem alterações na taxa metabólica, atividade enzimática, indução de formação de órgãos, quebra de dominância apical, mobilização de nutrientes orgânicos e inorgânicos, retardamento da senescência de tecidos e órgãos e formação de cloroplastos. Contudo, antes de se enfocarem os efeitos das citocininas, faz-se necessário conhecer a dinâmica desses compostos na célula vegetal, ou seja, como são sintetizadas em determinado tecido ou órgão onde elas podem atuar diretamente ou ser transportadas para outras partes das plantas. Nestas últimas, as citocininas podem ser inativadas por conjugação e/ou oxidação ou produzir um efeito fisiológico determinante.

DINÂMICA DAS CITOCININAS NA CÉLULA E NO VEGETAL COMO UM TODO

É bem conhecido o fato de que, para o desenvolvimento integrado e harmonioso das plantas, há a necessidade imperiosa de que os níveis de seus hormônios sejam controlados rigorosamente, conforme as necessidades ao longo da sua ontogênese. À luz dos conhecimentos hoje disponíveis, seria inimaginável visualizar o desenvolvimento sem se considerarem os mecanismos utilizados pelas plantas para regular os teores de seus hormônios, modificando-os de acordo com a natureza do órgão, estágio de desenvolvimento deste e as condições ambientais. O nível endógeno das citocininas é regulado pela taxa de biossíntese, bem como por reações metabólicas como a redução da cadeia lateral; conjugação; hidrólise e oxidação da cadeia lateral. As conjugações podem ser realizadas pela ligação de glicose a um nitrogênio do anel de adenina (N-glicosilação) ou ao oxigênio da cadeia lateral de certas citocininas (O-glicosilação). Dentre todas as reações já descritas aqui, as modificações mais importantes parecem ser as que ocorrem na cadeia lateral, pois pequenas substituições provocam grandes alterações na atividade das citocininas. Por outro lado, a conversão das bases em nucleosídeos (inserção de uma ribose) e nucleotídeos (inserção de ribose mais fosfato) é um metabolismo comum de purinas e parece não ser específico de Cks, sendo, portanto, menos importante na dinâmica das citocininas na célula e no vegetal como um todo. A seguir são consideradas as principais reações metabólicas que contribuem para a regulação do conteúdo endógeno de citocininas ativas nos vegetais.

Biossíntese

Conforme indicado antes, a história da descoberta das citocininas está ligada intimamente ao próprio estabelecimento da técnica da cultura de células, tecidos e órgãos vegetais *in vitro*. Curiosamente, o primeiro sucesso no cultivo de um órgão vegetal isolado *in vitro* foi obtido com raiz (White, 1934), mesmo antes da descoberta da primeira citocinina, cerca de duas décadas e meia mais tarde. Sabe-se, atualmente, que uma das possíveis

causas do sucesso na manutenção dessas raízes isoladas e vivas no meio de cultura teria sido o fato de serem elas os principais centros produtores de citocininas nas plantas. Outras evidências de que esses órgãos funcionariam como um importante sítio de síntese de citocininas vieram da constatação de que a senescência de folhas isoladas poderia ser retardada tanto pela aplicação de cinetina quanto pela formação de raízes nos pecíolos. Contudo, é necessário considerar que outros tecidos meristemáticos, como os ápices caulinares, também podem produzir citocininas, conforme evidenciado em plantas que, praticamente, não possuem raízes, como no caso de *Tillandsia recurvata*, uma bromélia epífita (Peres *et al.*, 1997).

O estudo da biossíntese de Cks enfrenta consideráveis limitações, principalmente pelo fato de o nível endógeno destas, nos tecidos vegetais, ser extremamente baixo, fazendo com que as dosagens desses compostos sejam um tanto trabalhosas. Também o papel central dos precursores de citocininas (nucleotídeos e isopentenilpirofosfato) no metabolismo celular tem-se mostrado um problema para o estudo da biossíntese dessa classe hormonal. Assim, em estudos utilizando precursores marcados radioativamente, a principal porção dos substratos radioativos supridos é incorporada em metabólitos comuns de purina, sendo apenas uma pequena fração incorporada propriamente em citocininas. Além disso, como as Cks possuem numerosas atividades complexas essenciais para o crescimento e o desenvolvimento da planta, uma abordagem genética (baseada na obtenção de mutantes) é difícil de alcançar. Desse modo, mutantes defeituosos para a síntese de citocininas (auxotróficos) podem ser letais; por outro lado, pode existir mais de uma via biossintética para citocininas, envolvendo por isso mais de um gene com funções semelhantes, o que, de alguma forma, acaba garantindo a produção desse hormônio mesmo quando um desses genes é inativado por mutação.

Até 2001, o modelo corrente para a biossíntese de Cks previa a adição da cadeia lateral, representada pelo isopentenilpirofosfato (Δ^2 -iPP), à posição N⁶ da adenosina monofosfato (AMP), reação essa catalisada pela enzima isopentenil transferase (IPT), produzindo a citocinina ribotídeo N⁶ Δ^2 -isopenteniladenosina monofosfato [9R-5'P]iP (Fig. 10.3). Os primeiros genes codificadores da enzima IPT foram isolados inicialmente em bactérias, e não em plantas. O gene *IPT* ou *TMR* presente no T-DNA de *Agrobacterium tumefaciens* produz [9R-5'P]iP pela reação já descrita aqui. As citocininas zeatina e zeatina ribosídeo seriam formadas subsequente, a partir de [9R-5'P]iP, por uma reação denominada trans-hidroxilação.

Uma outra alternativa para biossíntese de citocininas em plantas seria o RNA transportador (tRNA). A terminação 3' do anticódon do tRNA possui Cks, o que levou, inclusive, à hipótese de que essas Cks estariam envolvidas no controle da biossíntese de proteínas. No entanto, a maior parte das Cks biologicamente ativas não ocorre no tRNA. No tRNA predomina a forma *cis*-Z, e não *trans*-Z. A liberação de *cis*-Z a partir de tRNA, e posterior conversão para *trans*-Z, pode ser uma via indireta de produção de Cks, mas não a principal, pois tecidos auxotróficos para Cks possuem, obviamente, tRNA.

Desde o isolamento e seqüenciamento do gene *IPT* de *Agrobacterium*, várias tentativas foram feitas no sentido de encontrar eventuais seqüências de DNA de plantas que possuísem homologia com esse gene. As tentativas frustradas levaram à consideração até de que as citocininas presentes nos tecidos vegetais seriam produzidas por microorganismos simbiotes das plantas, e não pelas próprias plantas. Propôs-se, até mesmo, que a autotrofia para citocininas, também conhecida como autonomia ou habituação, que às vezes ocorre em calos cultivados *in vitro*, pode ser devida a contaminações imperceptíveis. Essas contaminações seriam causadas por certas bactérias, como as “metilotróficas facultativas de coloração rosada”, as quais não são passíveis de remoção durante a desinfestação dos tecidos para cultura *in vitro*.

Contrariando, todavia, a provocativa teoria supracitada, a finalização do seqüenciamento do genoma de *Arabidopsis thaliana* (*At*) possibilitou a identificação de nove homólogos do gene *IPT* de *Agrobacterium*, designados *AtIPT1* a *AtIPT9*. Análises filo-

genéticas indicaram que *AtIPT2* e *AtIPT9* codificam possíveis enzimas IPT envolvidas na síntese das citocininas presentes em tRNAs, enquanto os outros sete *AtIPTs* são mais homólogos ao gene bacteriano *IPT/TMR*. A expressão de sete desses genes em *Escherichia coli* resultou na secreção de iP e Z, confirmando o envolvimento deles na biossíntese de Cks (Takei *et al.*, 2001a). Além disso, a superexpressão do gene *AtIPT4* em calos de tabaco, induzida por meio da fusão desse gene com um promotor bastante forte (35S) isolado a partir do vírus do mosaico da couve-flor (CaMV), resultou na regeneração de gemas caulinares mesmo na ausência de Cks no meio de cultura, o mesmo não ocorrendo quando se utilizou o gene *AtIPT2* para as transformações genéticas (Kakimoto, 2001). Surpreendentemente, de modo diferente da enzima IPT de bactéria, a enzima *AtIPT4* utilizou ATP e ADP preferencialmente ao AMP como substrato (Kakimoto, 2001). Os produtos dessas reações parecem ser isopenteniladenosina-5'-trifosfato e isopenteniladenosina-5'-difosfato (Fig. 10.3), podendo ser, subseqüentemente, convertidos a zeatina.

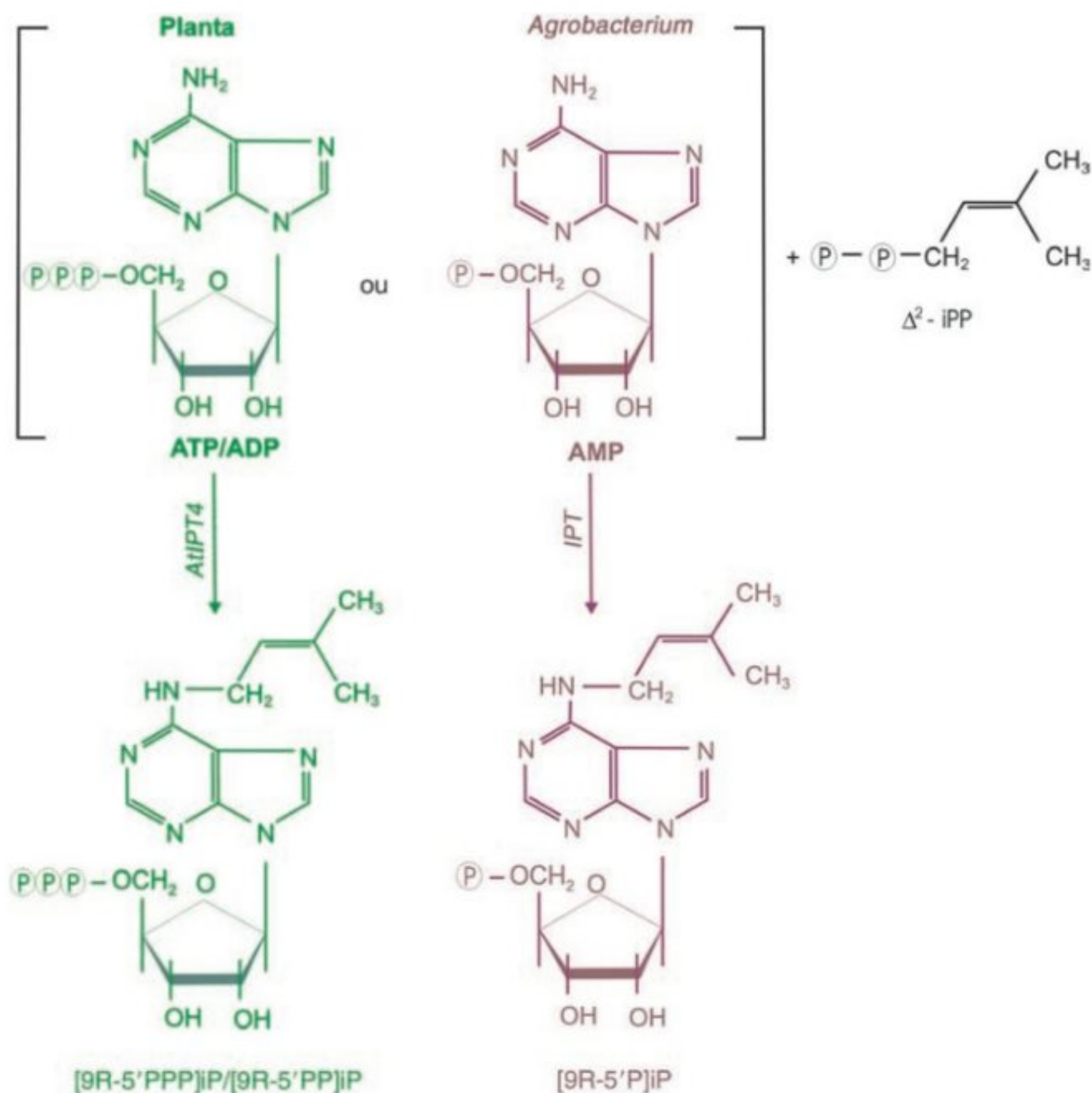


FIGURA 10.3

Biossíntese de citocininas. A enzima isopentenil transferase (IPT) é codificada pelo gene *AtIPT4* em *Arabidopsis thaliana* (coloração verde) e pelo gene *IPT* em *Agrobacterium tumefaciens* (coloração marrom). Diferentemente de bactéria, a enzima IPT de plantas utiliza preferencialmente ATP ou ADP em vez de AMP.

A descoberta da participação de mais de um gene na reação de biossíntese de Cks em plantas explica a dificuldade verificada até então em isolar mutantes defectivos para essa reação. Desse modo, a inativação de um dos genes *AtIPT* seria compensada pelo funcionamento dos demais. O único mutante conhecido para a biossíntese de Cks era o *amp1* (*altered meristem program*) de *Arabidopsis thaliana*. Contudo, ao contrário do que se poderia esperar, plantas mutantes portadoras desse gene defectivo possuem níveis elevados de citocininas. O isolamento do gene defectivo *amp1* mostrou que seu alelo funcional (*AMP1*) codifica uma carboxipeptidase do glutamato similar às enzimas envolvidas na clivagem e ativação de pequenos peptídeos sinalizadores, como o *ENOD40*, a sistemina e o *CLAVATA3*. Esse resultado sugere que uma das funções do peptídeo ativado pela enzima codificada por *amp1* seria inibir a biossíntese de Cks, o que explicaria como a perda de função do gene mutante *amp1* leva a um acúmulo de Cks.

Conjugação e hidrólise

Desde que se isolou o primeiro gene de biossíntese de citocininas em *Agrobacterium tumefaciens*, tem se utilizado extensivamente do mesmo para produzir plantas transgênicas com elevada capacidade de sintetizar substâncias dessa classe hormonal. Contudo, quando se determina o conteúdo endógeno de citocininas dessas plantas, a maior parte encontra-se na forma conjugada com moléculas de açúcar. As moléculas conjugadas de citocininas são tidas como fisiologicamente inativas. Esses resultados sugerem que as plantas mantêm um controle estrito dos níveis endógenos de citocininas funcionais, sendo a conjugação um dos mecanismos utilizados para esse controle. Existe uma série de posições nas moléculas de Cks, onde elas podem se ligar a açúcares, como glicose e ribose (Fig. 10.4 e Tabela 10.1). Em casos raros, as Cks também podem conjugar-se com aminoácidos. Um composto conhecido nesse caso é o ácido lupínico, o qual é um metabólito de zeatina formado pela adição de alanina ([9Ala]Z).

Como as citocininas são derivados de nucleotídeos e nucleosídeos (Fig. 10.3), substâncias estas que possuem ribose como parte integrante da molécula, não se costuma considerar as formas ribosídicas como conjugados verdadeiros, mas somente as glicosídicas. Conforme é mostrado na Fig. 10.4 e na Tabela 10.1, a glicosilação de Cks pode ocorrer tanto no anel purínico, formando ligações N-glicosídeos (radicais R_2 , R_3 e R_4), quanto na cadeia lateral, originando as formas O-glicosídeos (radical R_5). Os N-glicosídeos são possíveis nas posições 3, 7, 9 e parecem ser uma forma irreversível de conjugação. Como os O-glicosídeos são ésteres formados no grupo OH da cadeia lateral, esse tipo de conjugação só é possível em citocininas derivadas de zeatina. Os O-glicosídeos são menos estáveis que os N-glicosídeos e podem ser hidrolisados por β -glicosidases, permitindo a retomada da atividade citocinina da molécula desconjugada.

De modo geral, a função dos metabólitos de Cks ainda é obscura. Contudo, a ocorrência de enzimas capazes de quebrar as ligações glicosídicas na cadeia lateral (O-glicosídeos) faz com que esses conjugados sejam considerados formas de estoque. Por outro lado, a estabilidade considerável dos N-glicosídeos sugere

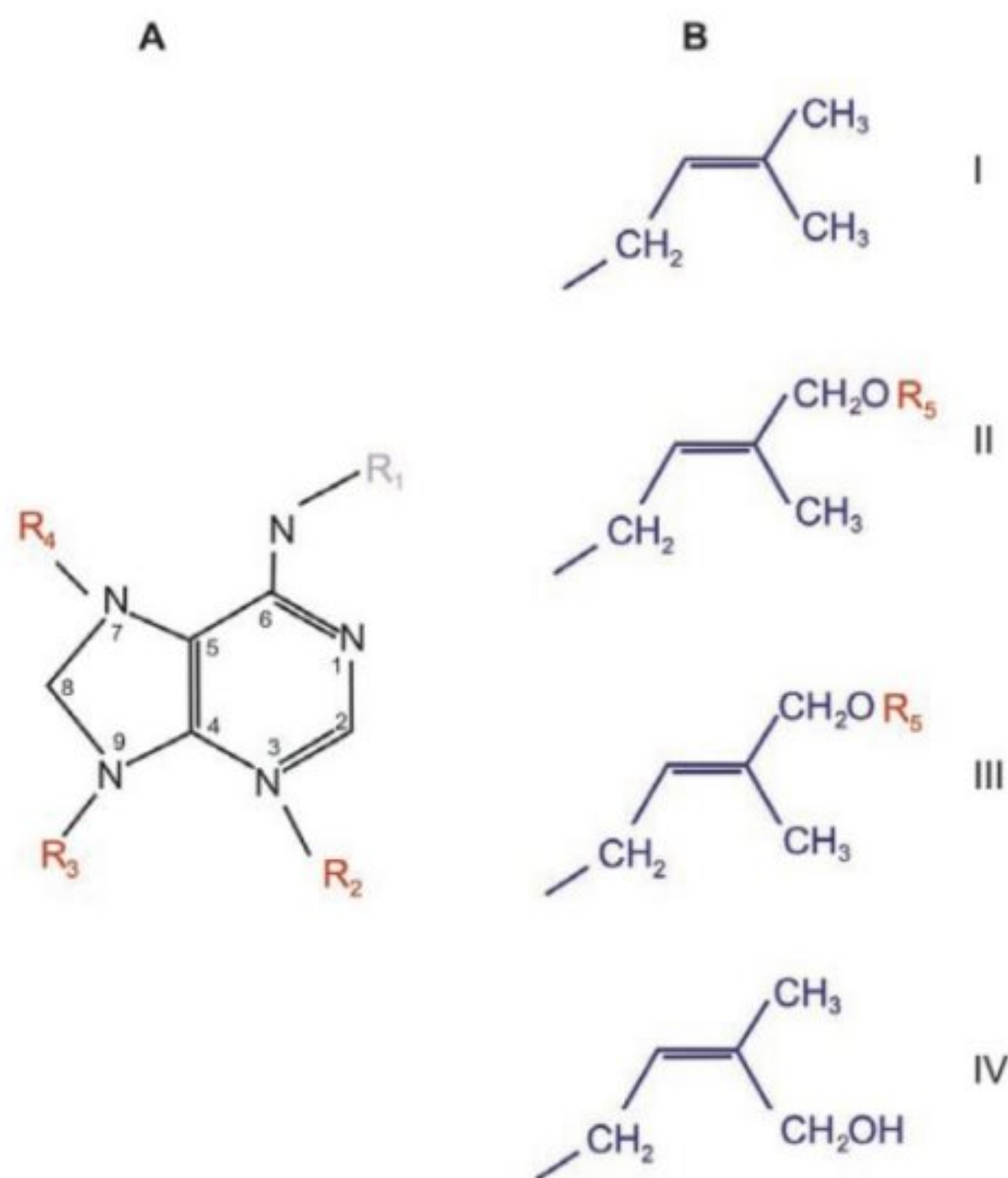


FIGURA 10.4

Anel purínico característico das citocininas (A) e cadeias laterais (R_1) possíveis (B). As conjugações possíveis tanto no anel purínico (radicais R_2 , R_3 e R_4 , que normalmente formam N-glicosídeos) quanto na cadeia lateral (radical R_5 , que costuma formar O-glicosídeos) encontram-se descritas na Tabela 10.1.

que eles seriam produtos de “destoxificação” formados quando o nível de Cks começa a alcançar valores elevados, sendo acionado um mecanismo, inclusive, quando essa classe hormonal é aplicada nas plantas ou em pedaços cultivados *in vitro*.

Como as citocininas ribosídicas são frequentemente encontradas no xilema, elas têm sido consideradas como formas de transporte. As bases livres representadas por iP, Z e (diH)Z seriam, por conseguinte, as formas ativas, ou seja, espécies moleculares capazes de se ligarem a receptores e desencadear uma resposta fisiológica (ver adiante neste capítulo). Todas as outras formas devem ser hidrolisadas primeiro antes de se ligarem ao receptor, o mesmo não sendo possível para os conjugados 7 e 9-glicosil e 9-alanil, que são muito pouco ativos em bioensaios. Como as formas glicosídicas são mais solúveis, elas poderiam ser acumuladas nos vacúolos de células maduras. De fato, já foi proposto que a capacidade de glicosilação é maior em tecidos maduros. Por outro lado, tecidos meristemáticos teriam mais citocininas na forma livre e, portanto, ativa, o que proporcionaria a divisão celular.

Somando-se todas as possibilidades de variações devido às modificações na cadeia lateral ou no anel purínico, tem-se que o número de citocininas possíveis é relativamente elevado. Algumas delas estão sumarizadas na Fig. 10.4 e Tabela 10.1. É interes-

TABELA 10.1

Principais tipos de citocininas e seus conjugados. As posições dos radicais são mostradas na Fig. 10.4.
H = hidrogênio; R = ribose; RP = ribose-5'-monofosfato; G = glicose; X = xilose; A = alanina

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Nome	Símbolo
1		-	H	-	-	N ⁶ -Δ ² -isopenteniladenina	iP
2		-	R	-	-	N ⁶ -Δ ² -isopenteniladenosina	[9R]iP
3	I	-	RP	-	-	N ⁶ -Δ ² -isopenteniladenosina-5-monofosfato	[9R-5'P]iP
4		-	-	G	-	N ⁶ -Δ ² -isopenteniladenina-7-glicosídeo	[7G]iP
5		-	G	-	-	N ⁶ -Δ ² -isopenteniladenina-9-glicosídeo	[9G]iP
6		-	H	-	H	<i>trans</i> -zeatina	Z ou <i>t</i> -Z
7		-	R	-	H	<i>trans</i> -zeatina ribosídeo	[9R]Z
8		-	RP	-	H	<i>trans</i> -zeatina ribosídeo-5-monofosfato	[9R-5'P]Z
9		-	-	G	H	<i>trans</i> -zeatina-7-glicosídeo	[7G]Z
10		-	G	-	H	<i>trans</i> -zeatina-9-glicosídeo	[9G]Z
11		-	A	-	-	ácido lupínico	[9Ala]Z
12	II	-	G	-	G	<i>trans</i> -zeatina-9-glicosídeo-O-glicosídeo	[9G](OG)Z
13		-	H	-	G	<i>trans</i> -zeatina-O-glicosídeo	(OG)Z
14		-	R	-	G	<i>trans</i> -zeatina ribosídeo-O-glicosídeo	[9R](OG)Z
15		-	RP	-	G	[9R](9G)-5'-monofosfato	[9R-5'P](OG)Z
16		-	H	-	X	<i>trans</i> -zeatina-O-xilosídeo	(OX)Z
17		-	R	-	X	<i>trans</i> -zeatina ribosídeo-O-xilosídeo	[9R](OX)Z
18		-	H	-	H	diidrozeatina	(diH)Z
19		-	R	-	H	diidrozeatina ribosídeo	[9R](diH)Z
20		-	RP	-	H	diidrozeatina ribosídeo-5-monofosfato	[9R-5'P](diH)Z
21		G	-	-	H	diidrozeatina-3-glicosídeo	[3G](diH)Z
22		-	-	G	H	diidrozeatina-7-glicosídeo	[7G](diH)Z
23	III	-	G	-	H	diidrozeatina-9-glicosídeo	[9G](diH)Z
24		-	H	-	G	diidrozeatina-O-glicosídeo	(OG)(diH)Z
25		-	R	-	G	diidrozeatina ribosídeo-O-glicosídeo	[9R](OG)(diH)Z
26		-	RP	-	G	[9R](OG)(diH)Z-5'-monofosfato	[9R-5'P](OG)(diH)Z
27		-	H	-	X	diidrozeatina-O-xilosídeo	(OX)(diH)Z
28		-	R	-	X	diidrozeatina ribosídeo-O-xilosídeo	[9R](OX)(diH)Z
29	IV	-	H	-	-	<i>cis</i> -zeatina	<i>c</i> -Z
30		-	G	-	-	<i>cis</i> -zeatina-9-glicosídeo	[9G] <i>c</i> -Z

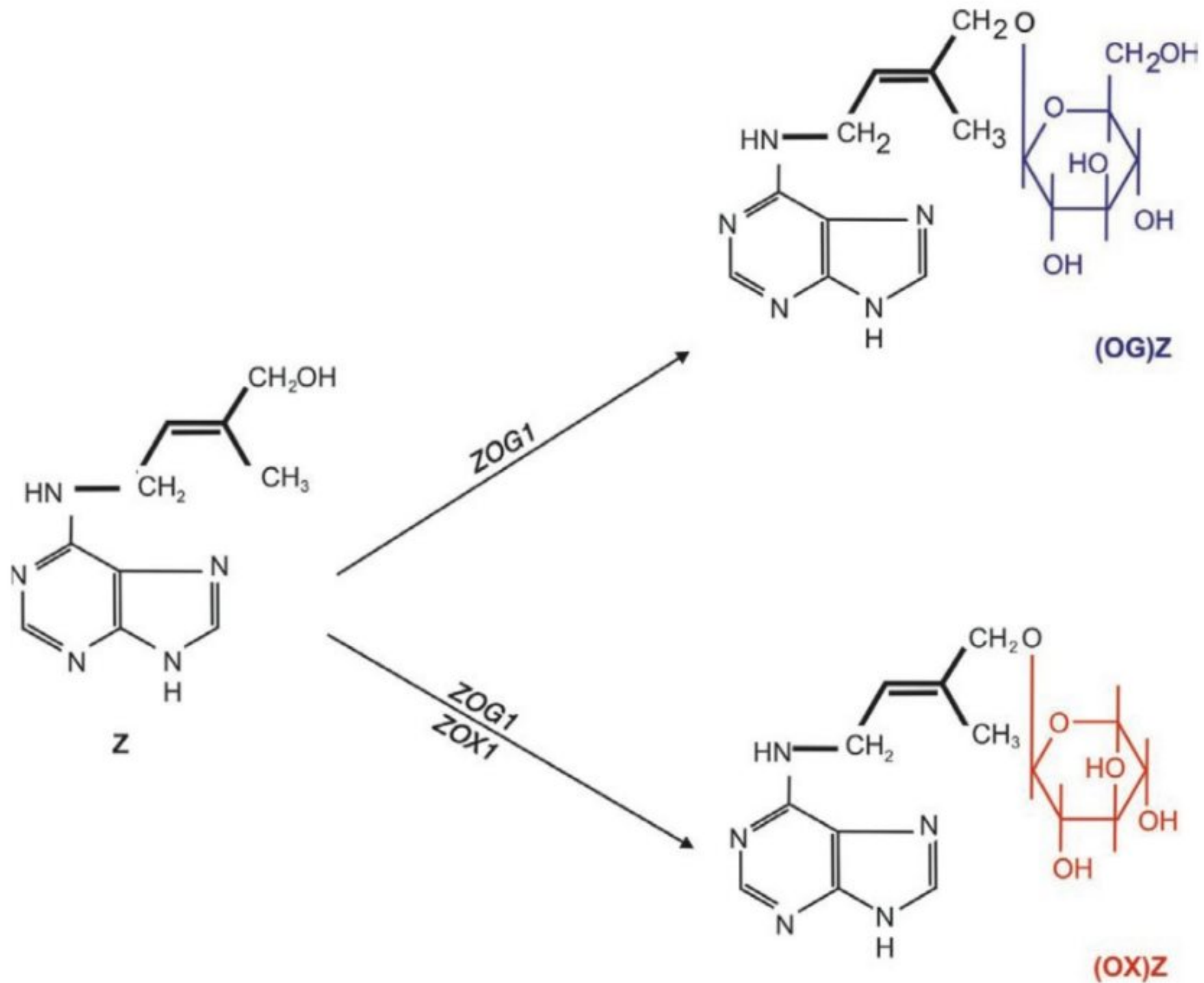
sante mencionar ainda que, atualmente, tanto cinetina quanto benzilaminopurina (BAP) e seus metabólitos têm sido considerados também como Cks de ocorrência natural, pois ambas já foram isoladas de tecidos vegetais. Alguns metabólitos naturais de BAP são suas formas hidroxiladas denominadas meta e ortotopolinas. Por outro lado, embora a difeniluréia (DPU) já tenha sido erroneamente identificada como um constituinte da água de coco, estudos recentes indicaram que Cks do tipo feniluréias não ocorrem naturalmente em plantas (Mok & Mok, 2001).

Nos últimos anos, importantes descobertas foram feitas sobre a base genética envolvida na conjugação e hidrólise de citocininas. Desse modo, um cDNA* codificando a enzima zeatina-

O-glicosiltransferase (ZOG1), o qual conjuga zeatina com UDP-glicose, foi isolado em *Phaseolus lunatus*. O cDNA correspondente à enzima zeatina-O-xilosiltransferase (ZOX1) foi isolado por homologia (93% no nível de DNA) em *P. vulgaris* (Mok et al., 2000). A enzima codificada por ZOX1 conjuga zeatina com UDP-xilose. Tanto UDP-glicose quanto UDP-xilose são substratos para ZOG1, mas a afinidade por UDP-glicose é maior (Mok et al., 2000). Quanto à enzima ZOX1, esta só aceita UDP-xilose como substrato. Ambas as enzimas podem glicosilar *t*-Z (Fig. 10.5), mas, a princípio, não glicosilam (diH)Z, *c*-Z ou [9R]Z. Os genes ZOG1 e ZOX1 apresentam pronunciada expressão em sementes imaturas, mas baixa expressão em tecidos maduros.

Um gene codificando uma enzima capaz de quebrar ligações O-glicosídicas de citocininas foi isolado em milho (*Zea mays*). Tal gene, denominado ZM-P60.1, codifica para uma β-glicosidase, enzima esta capaz de hidrolisar glicosídeos na posição 3 do anel purínico (N3-glicosídeos) e da cadeia lateral (O-glicosídeos), mas não glicosídeos nas posições 7 e 9 do anel purínico

*cDNA: fita de DNA obtida artificialmente a partir do mRNA de determinado gene. O cDNA tem a mesma seqüência do gene correspondente, mas não contém a região promotora nem os íntrons, já que foi produzido a partir do produto da expressão (mRNA) do gene em questão.

**FIGURA 10.5**

Conjugação de citocininas por glicosilação. Os genes *ZOG1* e *ZOX1* codificam, respectivamente, para síntese de O-glicosiltransferase e O-xilosiltransferase. Essas enzimas têm especificidade por *trans*-zeatina (Z) como substrato e não conseguem conjugar (diH)Z, *c*-Z ou [9R]Z. Os compostos (OG)Z e (OX)Z representam moléculas de zeatina conjugadas com glicose (azul) e xilose (vermelho), sendo, portanto, fisiologicamente inativos.

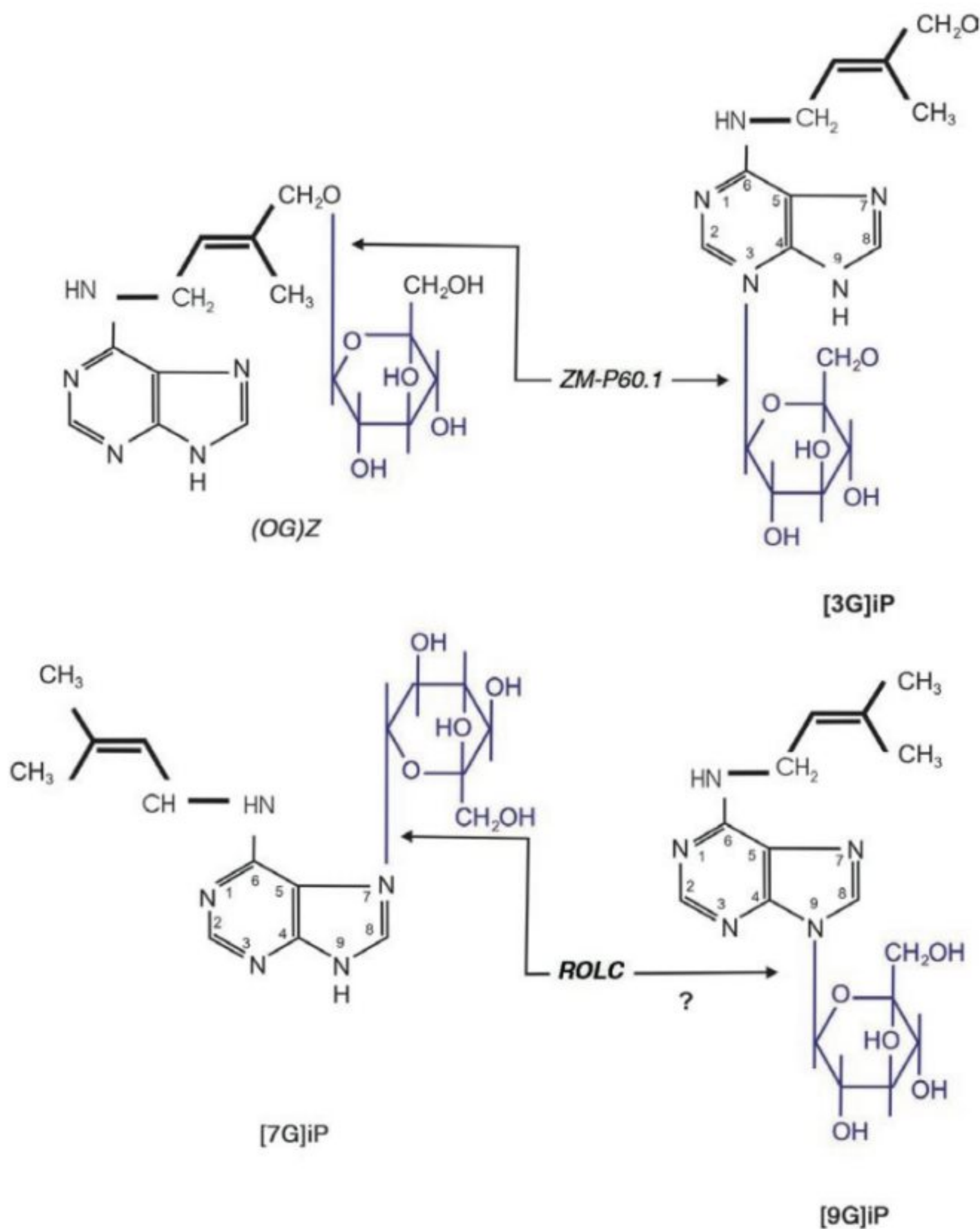
(N7 e N9-glicosídeos). Esse tipo de reação equivale a uma reativação de citocininas anteriormente inativadas por glicosilação (Fig. 10.5), atuando assim como um importante mecanismo utilizado pelas plantas para modular seus níveis de Cks ativas. Curiosamente, a presença no tecido vegetal da forma conjugada e inativada de auxina com glicose (AIA-glicose) inibe a atividade do gene *ZM-P60.1*. Em termos de atividade hormonal, ambas as situações indicariam uma tendência à redução das formas fisiologicamente ativas das duas classes hormonais simultaneamente, o que poderia ser um possível mecanismo de manutenção de determinado balanço auxina/citocinina nos tecidos vegetais.

Por fim, especula-se que o gene *ROLC* de *Agrobacterium rhizogenes* codifique uma enzima capaz de hidrolisar glicosídeos nas posições N7 e N9 do anel purínico, liberando assim citocininas ativas, como mostrado na Fig. 10.6. Embora plantas superexpressando *ROLC* possuam alguns sintomas típicos de excesso de citocininas, tais como a baixa dominância apical e a redução

do crescimento, elas também apresentam sintomas sem conexão com excesso de citocininas, ou mesmo mais associados à falta desse hormônio, tais como redução do conteúdo de pigmentos nas folhas, redução da fertilidade masculina e feminina, aumento do sistema radicular, e as raízes transgênicas isoladas conseguem crescer continuamente em meio sem hormônio (Faiss *et al.*, 1996).

Oxidação

Um outro importante mecanismo de controle do nível endógeno de Cks ativas utilizado pelas plantas é a quebra da cadeia lateral, sendo a oxidase de citocinina (CKO) a enzima responsável. A maioria das CKO, mas nem todas elas, são glicoproteínas com pH ótimo variando entre 6,0 e 9,0. O principal substrato para a CKO é a isopenteniladenina e, em menor grau, a zeatina, rendendo a reação 3-metil-2-butenal e adenina (Fig.

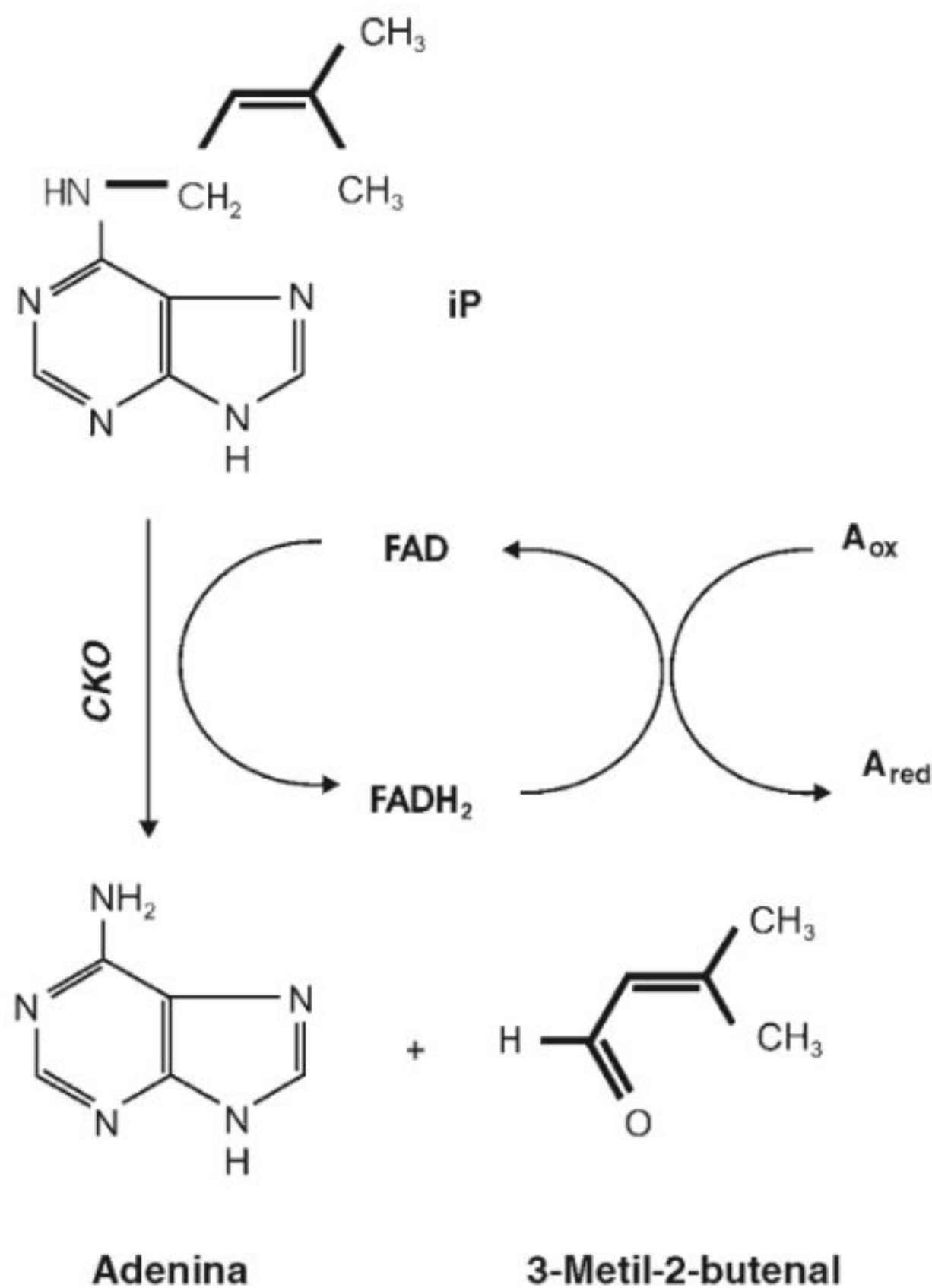
**FIGURA 10.6**

Hidrólise de citocininas. A enzima codificada pelo gene *ZM-P60.1* é capaz de hidrolisar O-glicosídeos de zeatina e N-glicosídeos de isopenteniladenina e zeatina na posição 3, mas não nas posições 7 e 9, estes dois últimos, portanto, funcionando com possíveis formas de inativação. Os O-glicosídeos e N3-glicosídeos, dada a reversibilidade pela ação enzimática, podem ser formas de armazenamento. Especula-se que o gene *ROLC* de *Agrobacterium rhizogenes* codifique uma enzima capaz de hidrolisar glicosídeos nas posições N7 e N9.

10.7). Contudo, diferentes citocininas, como a [9R]Z, [9R]iP, [9G]Z, [7G]Z e [9Ala]Z, também são quebradas pela CKO. Isso indica que modificações do anel purínico não afetam a atividade da enzima. Por outro lado, modificações da cadeia lateral, como aquelas encontradas na BAP, (diH)Z, cinetina e O-glicosilação, produzem Cks resistentes à oxidase de citocinina. Além disso, a CKO parece não atuar sobre nucleotídeos (formas contendo fósforo) como substrato. Curiosamente, BAP e cinetina adicionadas aos tecidos vegetais podem ser quebradas de modo enzimático, sugerindo que existam outras enzimas atuando além da CKO.

Em tecidos com elevada atividade de oxidase de citocinina, a (diH)Z costuma ser a principal citocinina presente, confirmando ser uma forma mais resistente à ação dessa enzima. De forma bem diferente, em espécies com baixíssima atividade de CKO (ex.: rabanete), a N-glicosilação deve ser o principal mecanismo de inativação de Cks.

Um gene correspondente à oxidase de citocinina foi isolado em milho. Como existem oxidases de citocininas que são glicoproteínas e outras que não são, é possível que existam outros tipos de genes codificando essas enzimas. A partir do isolamento do gene para CKO, foi possível determinar que sua maior expressão

**FIGURA 10.7**

Degradação de isopenteniladenina (iP) pela oxidase de citocinina (CKO), com a participação da flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e de uma outra substância como aceptores de elétrons (A_{ox}), a qual poderia ser o cobre (Cu^{2+}).

(produção de mRNA correspondente) encontra-se no grão de milho, o que sugere que a enzima desempenhe um papel importante na defesa contra fungos fitopatogênicos que produzem Cks. Outra possível função para a CKO poderia ser o controle do ciclo celular através da degradação de Cks. Uma diminuição do nível de Cks inativaria as proteínas responsáveis pela progressão do ciclo celular, ou seja, as ciclinas.

Muitos estudos têm mostrado que Cks do tipo feniluréia, como o thidiazuron (TDZ) e a difeniluréia (DPU), são fortes inibidores da atividade da CKO. Análises recentes da cinética da proteína codificada pelo gene de CKO indicaram que as feniluréias atuam como inibidores competitivos de Cks para o sítio ativo da referida enzima.

Uma consequência prática e de amplo alcance, decorrente dos estudos do metabolismo de citocininas, seria certamente uma melhor compreensão dos resultados advindos da aplicação desses compostos, seja em estudos básicos ou em aplicações biotecnológicas. Também um manuseio mais adequado de certos fatores envolvidos nesse metabolismo permitiria aumentar ou reduzir

os níveis endógenos, direcionando-os para propósitos práticos, sem precisar recorrer a tratamentos com concentrações estranhas à planta com conseqüências gênico-fisiológicas desastrosas, conforme verificado em alguns casos aplicados. É preciso ter em conta que a citocinina, ao ser aplicada a um tecido vegetal, poderá ser metabolizada e a resposta será em função da capacidade metabólica do tecido em questão. Além disso, algumas diferenças na *atividade* exibida pelos vários tipos de Cks podem ser atribuídas à relativa *estabilidade* desses compostos. Assim, a (diH)Z pode ser mais ativa que a Z em alguns casos, devido à ação da citocinina oxidase, a qual limita o nível de Z, mas não o de (diH)Z. Não obstante, a (diH)Z pode ser inativada por glicosilação (Tabela 10.1), e, em tecidos com tal capacidade, outras citocininas podem ser as mais ativas. De modo semelhante, a constatação de que o thidiazuron é um inibidor da oxidase de citocinina, aliada ao fato de, provavelmente, não haver um sistema enzimático para sua inativação, explica, pelo menos em parte, a superioridade dessa citocinina na maioria das aplicações biotecnológicas.

Transporte

Conforme mencionado anteriormente, o principal sítio de biosíntese de Cks nas plantas é representado pelas raízes. Essa localização sugere que as citocininas podem ser transportadas para a parte aérea através do xilema. De fato, a análise da seiva bruta em várias plantas tem demonstrado a presença destas em boas quantidades, destacando-se dentre elas a zeatina ribosídeo. Desse modo, tem-se como noção geral que as citocininas são transportadas principalmente pelo xilema sob a forma de ribosídeos.

As citocininas também são encontradas no floema, sobretudo durante a translocação de assimilados de folhas senescentes (fontes) para as partes jovens da planta (drenos). Enquanto as formas ribosídicas são transportadas pelo xilema, o transporte de citocininas pelo floema ocorre principalmente sob a forma de glicosídeos. Uma das funções do acúmulo desses glicosídeos – inicialmente nos vacúolos de folhas senescentes, sendo depois translocados para as gemas que deverão entrar em dormência, principalmente durante o inverno – seria suprir as citocininas necessárias à retomada de crescimento na primavera. Essa observação implica reconhecer que um dos primeiros eventos desencadeadores da quebra de dormência dessas gemas seria a hidrólise das citocininas glicosídicas armazenadas, com a conseqüente liberação das bases livres ativas.

MODO DE AÇÃO DAS CITOCININAS

O modo de ação de qualquer hormônio vegetal envolve três etapas principais, a saber: a percepção do sinal; a transdução do sinal percebido; e os alvos primários da ação hormonal. A primeira delas, ou seja, a percepção, é realizada através da ligação do hormônio a um receptor específico. Receptores, normalmente, são proteínas localizadas na membrana celular ou no citoplasma, as quais se ligam com mensageiros químicos de forma específica e reversível. De modo diferente das enzimas, as proteínas que constituem os receptores não alteram os mensageiros químicos.

Após a ligação, todavia, o receptor pode sofrer mudança conformacional, alcançando um estágio ativado, o qual, por sua vez, desencadeia uma cascata de eventos químicos intracelulares que leva a uma resposta característica. Desse modo, as proteínas receptoras atuam tanto na detecção quanto na transdução do sinal. Outras moléculas (mensageiros secundários) podem estar envolvidas na transdução do sinal, amplificando-o. Por fim, o sinal percebido e amplificado deve interferir em mecanismos celulares básicos, como a expansão, divisão ou diferenciação, os quais são os alvos primários fundamentais e cujo somatório de efeitos se traduz na modificação do vegetal como um todo. Esses mecanismos possuem especificidade para cada classe hormonal. A seguir será discutido o que se conhece, até o momento, para as citocininas.

Percepção e transdução de sinal

Postula-se, atualmente, que a sinalização de citocininas envolveria o chamado sistema regulatório de dois componentes (*two-component regulatory system*), inicialmente descrito em bactérias. Esse sistema, comum em procariotos, eucariotos simples e plantas, consiste em uma enzima cinase do tipo histidina (componente 1) que percebe a entrada do sinal e em um regulador de resposta

(componente 2) que medeia a saída do sinal. A via de sinalização se inicia quando a cinase é ativada por citocinina e fosforila seu próprio resíduo de histidina, transferindo esse fosfato, por fim, para o regulador de resposta (ARR). No caso de citocininas, existem transferidores de fosfato (AHP) que agem entre o sensor (receptor) e o regulador de resposta (Fig. 10.8).

As evidências de que as citocininas possuam uma sinalização segundo um sistema de dois componentes surgiram quando se isolou o gene *CRE1* e se constatou que ele codificava um receptor do tipo histidina cinase. Esse gene foi isolado através do estudo do mutante *CRE1* ("cytokinin response 1") de *Arabidopsis*, o qual mostrava baixa sensibilidade às Cks. Outra histidina cinase (*CK11*) envolvida na sinalização de Cks já havia sido isolada em *Arabidopsis*. Contudo, era necessário demonstrar que tais receptores são capazes de se ligar à citocinina e desencadear uma resposta hormonal. Isso foi conseguido de modo elegante por Inoue *et al.* (2001), trabalhando com um mutante de levedura que não possuía um receptor do tipo histidina cinase. Essa mutação é letal nas leveduras, mas a letalidade era suprimida quando as leveduras passaram a expressar o gene responsável pela resposta às citocininas (*CRE1*) na presença de citocininas advindas do meio de cultura. Desse modo, a complementação de leveduras mutantes através da transformação com o gene *CRE1*, além de confirmar

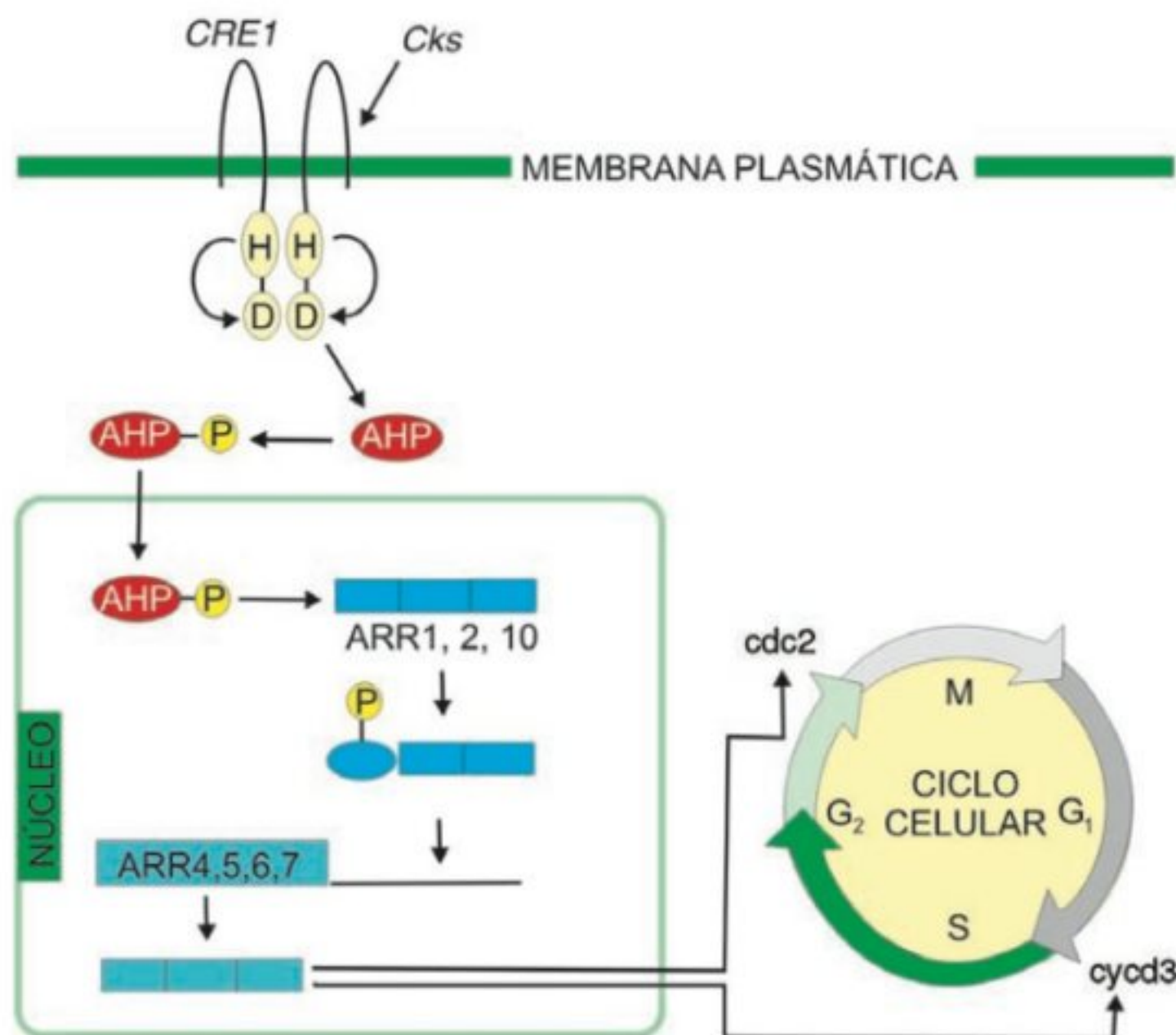


FIGURA 10.8

Transdução do sinal de citocininas. A ligação de citocininas ao receptor *CRE1*, localizado na membrana plasmática, faz com que este atue como uma histidina cinase, a qual inicia uma série de fosforilações que irão desencadear a ativação de reguladores de respostas (ARRs). A primeira dessas fosforilações é a transferência de um fósforo do aminoácido histidina (H) para um resíduo de glutamato (D) no próprio receptor (autofosforilação). Após isso, o fósforo é passado para as proteínas de fosfotransferência de histidina (AHP), as quais, por sua vez, fosforilam as proteínas ARR do tipo B (ARR1, 2, 10). As proteínas ARR do tipo B são fatores de transcrição que, quando ativados por fosforilação, se ligam ao DNA e promovem a ativação de genes ARR do tipo A (ARR4, 5, 6, 7). A ativação de reguladores de resposta do tipo A pode desencadear a ação de ciclinas, tais como *cdc2* e *cycd3*, o que explicaria um dos principais papéis das citocininas, ou seja, a regulação do ciclo celular.

que sua proteína correspondente é um receptor de Cks, acabou mostrando-se também como um ótimo ensaio para saber quais seriam as formas de Cks realmente ativas. Fazendo isso, Inoue *et al.* (2001) constataram que o thidiazuron age como citocinina verdadeira e não somente como um inibidor da enzima oxidase de citocinina, conforme anteriormente proposto. Além disso, nesse sistema, a *trans*-zeatina mostrou-se ativa, mas o isômero *cis* não (Fig. 10.9). Esses resultados confirmam previsões anteriores segundo as quais a modelagem espacial do receptor de citocininas sugeria que tanto Cks do tipo adenina quanto uréia têm conformações capazes de se ligar à mesma proteína receptora. É interessante notar que os receptores conhecidos de etileno (*ETR1* em *Arabidopsis* e *Never ripe* em tomateiro) também são cinases do tipo histidina.

Além de *CRE1*, a proteína codificada pelo gene *CKI1* parece ser um receptor de Cks, o qual teria uma regulação diferente de *CRE1*. Como pode ser observado, há uma redundância em receptores e reguladores de resposta, e isso explica a dificuldade em isolar mutantes baseados em triagem de fenótipos sem resposta a citocininas.

	S/ <i>CRE1</i>	C/ <i>CRE1</i>
DMSO	—	—
<i>trans</i> -zeatina	—	+
<i>cis</i> -zeatina	—	—
iP	—	+
BA	—	+
Thidiazuron	—	+
AIA	—	—
ABA	—	—
AG ₃	—	—

FIGURA 10.9

Expressão do gene que codifica um receptor de citocinina (*CRE1*) em levedura mutante deficiente em receptores do tipo histidina quinase. Esse tipo de mutação é letal, mas a introdução do gene *CRE1*, o qual codifica um receptor do tipo histidina quinase, possibilitou a sobrevivência das leveduras (representada pelo sinal “+”), desde que fossem cultivadas em meio contendo citocininas ativas. Ao se adicionarem formas inativas de citocininas (*cis*-zeatina), outras classes hormonais (AIA, ABA e AG₃) ou somente o solvente (DMSO) utilizado para solubilizar os hormônios, as leveduras morreram (indicado pelo sinal “—”). (Modificada de Inoue *et al.*, 2001.)

Embora o mutante *cre1* tenha um desenvolvimento normal dos caules formados na germinação de sementes, ele falha em formar gemas em cultura de calos *in vitro*. Isso sugere que a proteína *CRE1* funcional é um receptor presente em calos e que outros receptores que agem na planta, como um todo, não agem em calos. Além de se expressar em calos, a análise de expressão do gene *CRE1* indica que ele é predominantemente expresso nas raízes (Inoue *et al.*, 2001). A expressão predominante de *CRE1* em raízes parece corroborar a descoberta de que o mutante *cre1* é alélico à mutação “*wooden leg*” (*wol*), a qual causa defeito na divisão celular e desenvolvimento de tecido vascular de raiz.

Alguns reguladores de resposta (ARRs) envolvidos na sinalização de Cks (Fig. 10.8) já tiveram seus genes correspondentes isolados. Os reguladores de resposta do tipo B (ARR1, 2, 10) são fatores de transcrição ativados por citocininas. Esses fatores de transcrição, por sua vez, ativam a transcrição de genes de reguladores de resposta do tipo A (ARR4, 5, 6, 7). Como consequência, a região promotora dos genes de reguladores de resposta do tipo A respondem diretamente às Cks. Tomando vantagem dessa característica, Hwang & Sheen (2001) fundiram o promotor de ARR6 com o gene repórter da luciferase de vagalume (*LUC*), responsável pela síntese da luciferase, a substância luminosa desse inseto, e fizeram a expressão transiente em protoplastos de *Arabidopsis*. Utilizando tal sistema, ficou demonstrado que apenas bases livres (BA, iP e Z) ativaram o promotor de ARR6 e, conseqüentemente, provocaram a atividade da enzima luciferase detectada pela luminescência. De modo contrário, a forma ribosídica, [9R]Z, mostrou-se inativa (Fig. 10.10). Tal constatação sugere, fortemente, que mesmo as formas ribosídicas de citocininas não são ativas *per se*, sendo preciso a perda da ribose para ativá-las. Como discutido anteriormente, as formas ribosídicas são consideradas formas de transporte e, apesar de serem transportadas em células mortas (xilema), parece ser importante para a planta que elas estejam inativadas.

Alvos primários das citocininas

DIVISÃO CELULAR

Como o próprio nome indica, um dos principais eventos controlados pelas citocininas é a citocinese ou divisão celular. Hoje, sabe-se que as citocininas atuam em etapas específicas do ciclo celular, regulando a atividade de ciclinas, as quais são proteínas que controlam a divisão celular. O gene *CYCD3* codifica uma ciclina envolvida na passagem da fase G1 para a fase de síntese de DNA (S) do ciclo celular. Um fato interessante é que tecidos expressando *CYCD3* constitutivamente, isto é, tecidos de plantas transgênicas com superexpressão de *CYCD3* em todas as células, não dependem de Cks exógenas para formar calos esverdeados *in vitro* (Riou-Khamlichi *et al.*, 1999). Desse modo, *CYCD3* parece ser um dos genes primários induzidos por Cks. Outro gene primariamente induzido por Cks é o *CDC2*, uma cinase envolvida na transição da fase na qual os núcleos já sofreram duplicação do DNA (fase G2) para a entrada na mitose (M) propriamente dita. No caso da cinase codificada pelo gene *CDC2*, já foi evidenciado

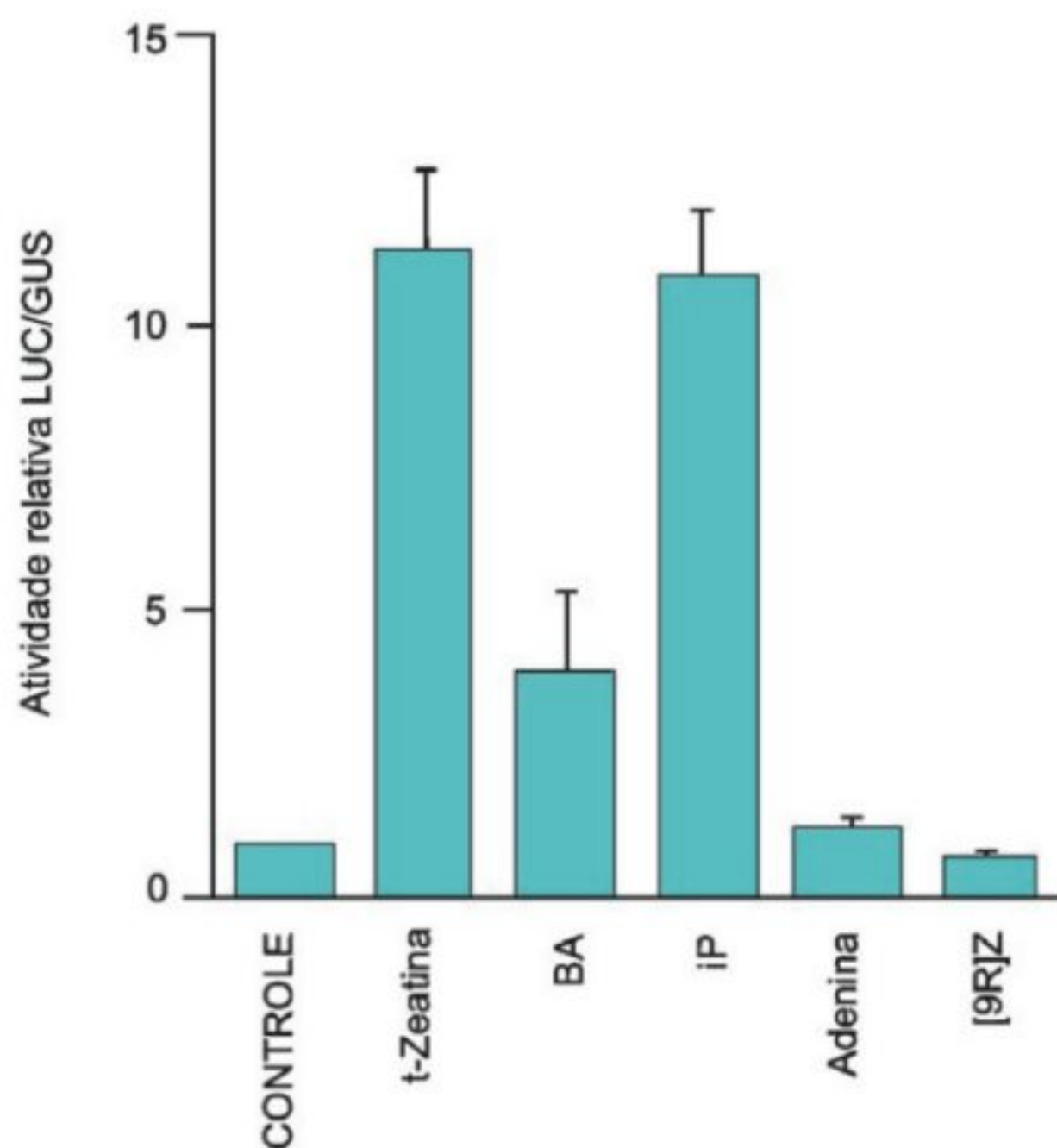


FIGURA 10.10

Ensaio de expressão transiente em protoplasto de *Arabidopsis* contendo o promotor de um gene induzido por citocininas (*ARR6*) ligado ao gene repórter da β -glucuronidase (*GUS*) ou luciferase (*LUC*). Notar que somente bases livres (BA, iP e Z) mostraram atividade nesse bioensaio, sugerindo que mesmo as formas ribosídicas, como [9R]Z, não são citocininas realmente ativas. (Modificado de Hwang & Sheen, 2001.)

que o hormônio auxina é necessário para síntese dessa proteína e que as citocininas são necessárias para sua ativação através de desfosforilação (Zhang *et al.*, 1996).

DIFERENCIAÇÃO CELULAR

Além da divisão celular, as citocininas estão intimamente ligadas à diferenciação das células, sobretudo no processo de formação de gemas caulinares. Para esse tipo de ação, possíveis candidatos seriam genes regulatórios, principalmente aqueles que possuem domínio homeótico,* como *KNOTTED1* (*KN1*) e *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*). Evidências para isso são o fato de plantas transgênicas expressando o gene *IPT* e *KN1* possuírem fenótipos semelhantes. Tanto plantas transgênicas de *Arabidopsis* superexpressando *IPT* quanto o mutante *amp1*, o qual possui níveis elevados de citocininas, mostraram um aumento na expressão dos

genes *KNAT1* (um homólogo de *KNOTTED1*) e *STM* (Rupp *et al.*, 1999). Essas plantas também apresentaram folhas serrilhadas parecidas com aquelas de plantas superexpressando *KNAT1*. Desse modo, os autores propuseram que as Cks estão a montante (*up stream*) desses genes homeóticos, o que significa dizer que as citocininas podem induzir sua expressão. Contudo, plantas transgênicas superexpressando o gene *KNOTTED* possuem níveis elevados de citocininas (Hewelt *et al.*, 2000), sugerindo que as citocininas também poderiam vir a jusante (*down stream*) da expressão desses genes. Uma explicação para isso seria admitir que o efeito de *KNOTTED* na produção de citocininas é indireto, através do estímulo à formação de tecidos meristemáticos, os quais são fontes de citocininas.

ESTABELECIMENTO DE DRENOS

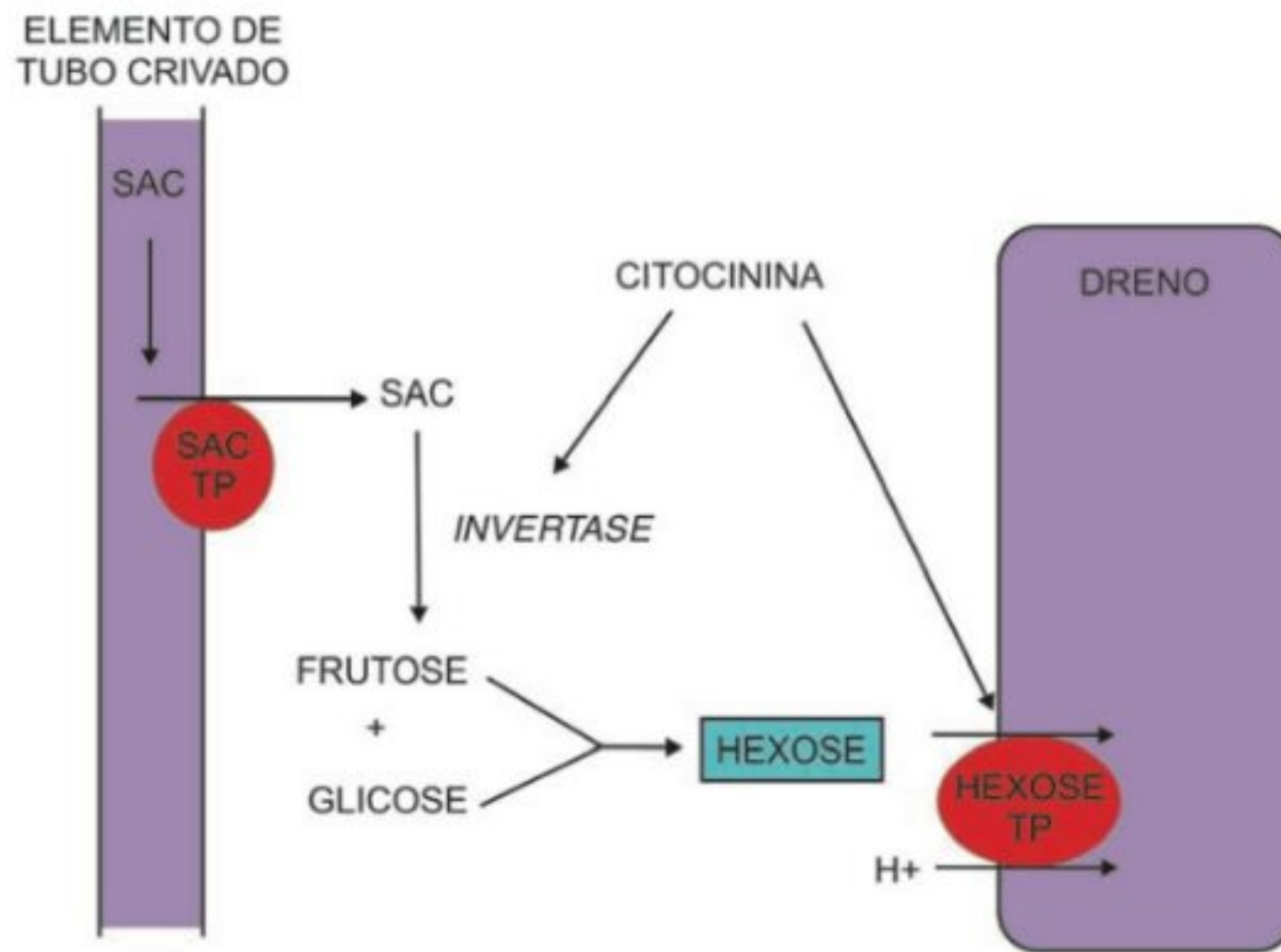
Para que gemas sejam formadas, é necessário também que haja um aporte de nutrientes, pois os novos brotos funcionam como drenos. Coincidentemente, as citocininas também estão envolvidas no estabelecimento de drenos (Fig. 10.11), atuando de modo direto em, pelo menos, duas proteínas (invertase e transportador de hexoses), as quais são necessárias para o descarregamento apoplástico do floema. A enzima invertase diminui o potencial químico da sacarose na região do descarregamento, favorecendo uma chegada contínua desse nutriente. Ao mesmo tempo, o transportador de hexose é necessário para que os açúcares entrem nas células do dreno.

RETARDAMENTO DA SENESCÊNCIA FOLIAR

O processo de envelhecimento de uma folha é acelerado quando esta é destacada da planta e mantida sob condições que minimizem o murchamento. Da mesma forma que ocorre nas folhas ligadas à planta, tem início então o aparecimento dos sinais inconfundíveis de senescência, como o surgimento e a progressão crescente do amarelecimento característico, processo esse resultante da degradação da clorofila. Ao mesmo tempo em que isso ocorre, no nível tissular tem início uma rápida e acentuada diminuição dos teores de proteínas e RNAs, a despeito das quantidades presentes de açúcares. A degradação das proteínas leva a um acúmulo de aminoácidos e amidas no interior da folha, já que estas não podem ser transportadas conforme ocorre nas folhas presas à planta. Tal constatação levou à interpretação inexorável de que a diminuição na síntese protéica não pode ser atribuída à falta de matéria-prima, ou seja, de aminoácidos. De fato, por meio de aminoácidos radioativamente marcados, já se sabia da ocorrência de uma acentuada redução na síntese protéica em folhas destacadas, em processo de envelhecimento.

Pelo menos desde 1964, sabia-se que a taxa elevada da degradação protéica, em folhas destacadas e com seus pecíolos mergulhados em água, era fortemente inibida quanto raízes adventícias se formavam na base destes, além do que a longevidade foliar era aumentada de forma proeminente (Fig. 10.12). Estava assim

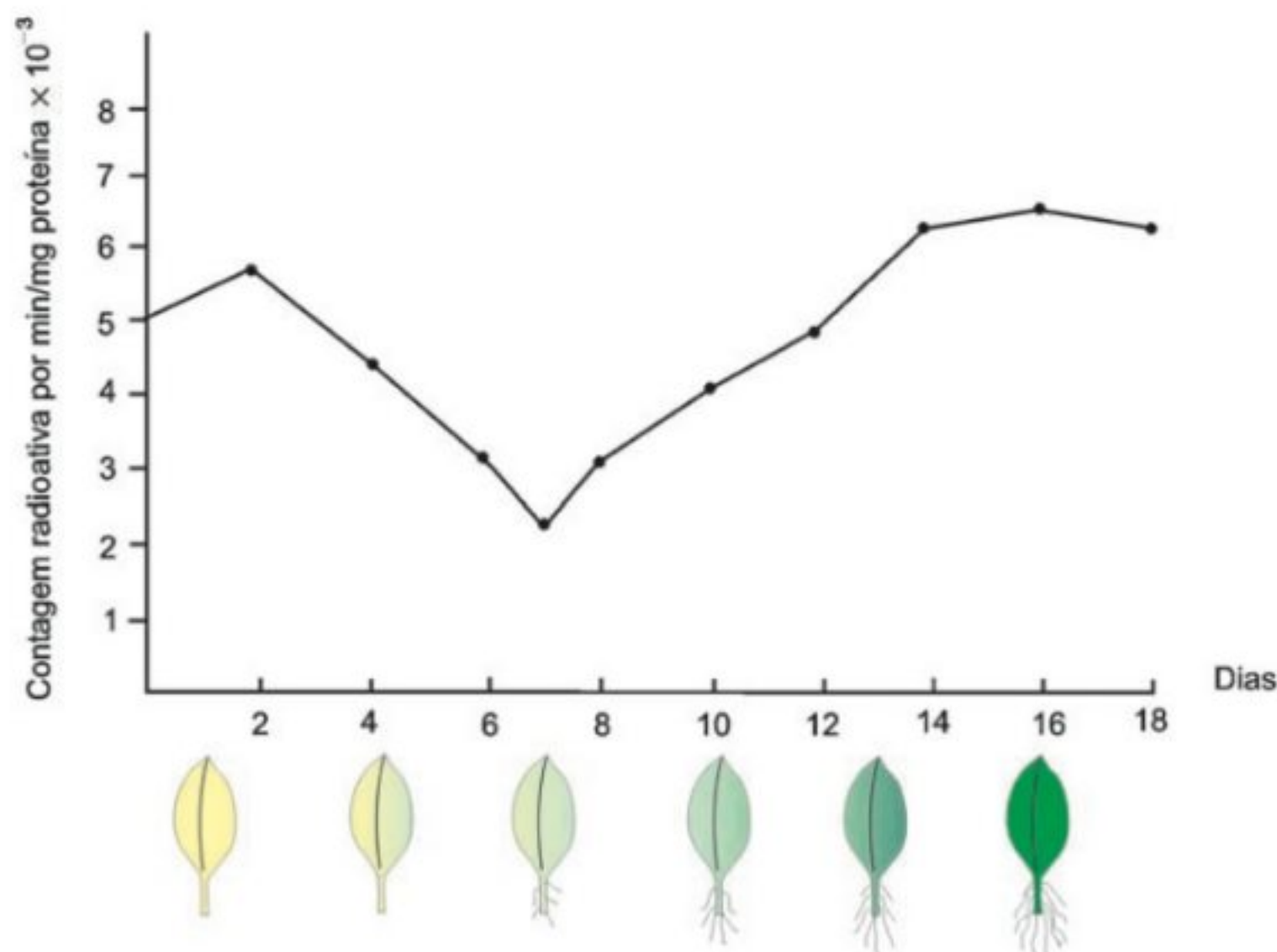
*Domínio homeótico (homeobox) é uma característica de genes envolvidos em mutações homeóticas, ou seja, mutações que provocam a transformação de um órgão em outro. O primeiro gene homeótico descoberto foi *antennapedia*, que provoca a formação de pernas no local onde deveriam formar-se antenas na mosca *Drosophila*.

**FIGURA 10.11**

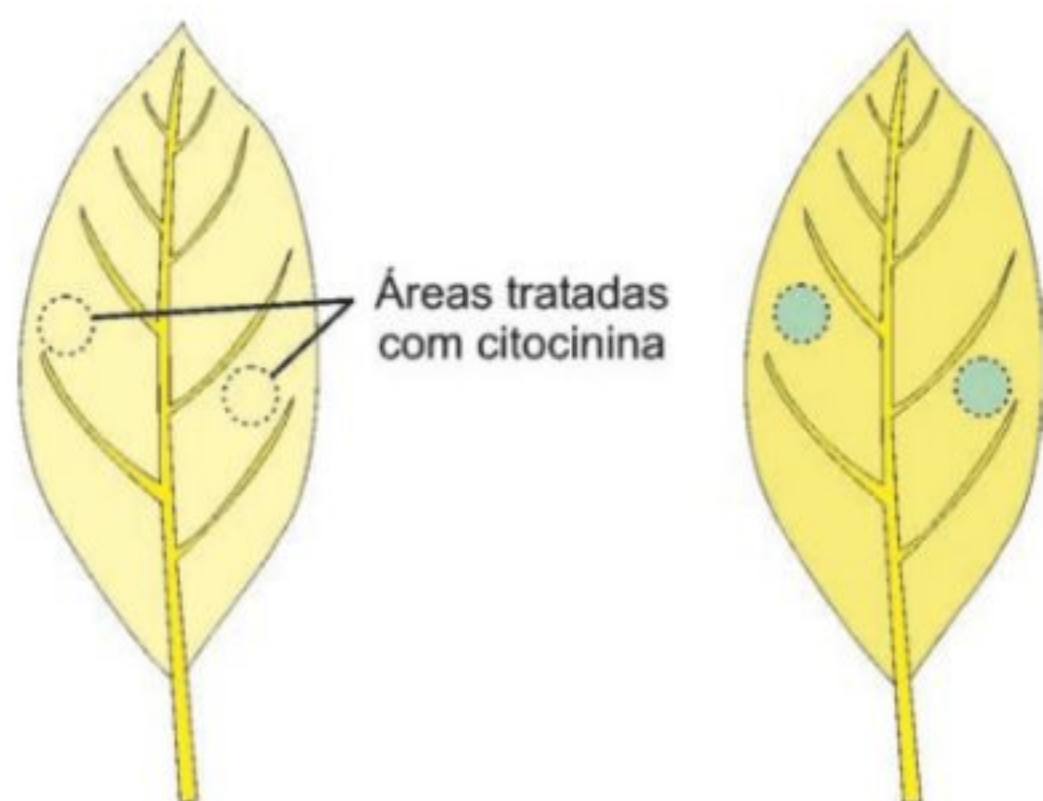
Esquema representativo dos efeitos da citocinina no estabelecimento de drenos, por meio da ação sobre a enzima invertase e um transportador de hexose. A invertase diminui o potencial químico da sacarose na região do descarregamento, favorecendo uma chegada contínua desse nutriente. Ao mesmo tempo, o transportador de hexose é necessário para que os açúcares entrem nas células do dreno. SAC, sacarose; TP, transportador. (Modificada de Roitsch & Ehneb, 2000.)

demonstrada uma relação entre o retardamento do envelhecimento da folha e a presença de raízes crescendo ativamente; postulou-se, na ocasião, que as raízes deveriam produzir algum “fator” necessário à manutenção da síntese protéica no limbo foliar e ao retardamento do envelhecimento.

Descobriu-se, mais tarde, que a aplicação de cinetina sobre folhas destacadas também prevenia a senescência, mantendo prolongadamente a coloração verde típica desses órgãos. Todavia, em certo momento, o que mais despertou a atenção dos pesquisadores foi a constatação de que, quando a citocinina era aplicada

**FIGURA 10.12**

Capacidade de síntese de proteína em folhas destacadas de tabaco, medida antes e depois da formação de raízes adventícias através do uso de metionina marcada (S³⁵). (Modificada de von B. Parthier, *Flora Jena*, 154:230, 1984.)

**FIGURA 10.13**

Efeito da inibição localizada da senescência de folhas de tabaco tratadas com uma solução de citocinina.

em pequenas áreas do limbo, apenas estas se mantinham verdes, enquanto, em todo o restante da folha, tinha continuidade o processo de senescência (Fig. 10.13). Estava, portanto, comprovado que, no caso das folhas enraizadas, o “fator” produzido pelas raízes era uma citocinina endógena que era transportada até o limbo. Estudos viriam também a indicar que as citocininas causavam uma rápida aceleração das taxas de síntese de RNAs e proteínas após cerca de 70 horas da aplicação.

Além da estimulação da síntese de proteína e de RNAs, o retardamento da senescência foliar pela aplicação de citocininas envolve também a mobilização de metabólitos no interior desse órgão. Quando gotas de uma solução de citocinina eram depositadas em áreas definidas do limbo foliar de tabaco em início de senescência e, simultaneamente, aminoácidos radioativos eram aplicados em outras áreas da folha, estas distantes das primeiras, ocorria uma acumulação do material radioativo justamente nos pontos tratados com o hormônio, indicando, nitidamente, que as áreas tratadas com o hormônio passavam a funcionar como uma espécie de “centros de atração” das moléculas de aminoácidos. Há evidências experimentais de que esse efeito “atrativo” estabelecido pela citocinina aplicada não estaria necessariamente relacionado com a síntese de proteína, visto que outras substâncias, não envolvidas nesse processo biossintético, também eram translocadas, acumulando-se na área tratada com a citocinina.

FOTOMORFOGÊNESE

Outro evento marcante controlado pelas citocininas é a fotomorfo-gênese, o que sugere que o fotorreceptor envolvido nesse processo, o fitocromo, também seja um alvo primário dessa classe hormonal. Recentemente, constatou-se que um dos reguladores de resposta da via de sinalização das citocininas, ARR4, impediria a reversão da forma ativa do fitocromo B (PhyB), ou seja, a forma que absorve luz na faixa do vermelho extremo, para a forma inativa, a qual absorve luz na faixa do vermelho. Desse modo, pode-se dizer que as citocininas mantêm PhyB na forma ativa e pode ser que alguns dos

efeitos das Cks, sobretudo no desestiolamento (inibição do crescimento no escuro) e diferenciação de cloroplastos, sejam mediados pelo fitocromo B (Fankhauser, 2002).

O somatório da ação das citocininas no nível celular, sobretudo nos processos de divisão e diferenciação celular, contribui para os chamados efeitos das citocininas na planta como um todo, os quais serão discutidos a seguir.

EFEITOS DAS CITOCININAS

Um aspecto importante relacionado ao efeito dos hormônios vegetais é o fato de que uma única classe hormonal pode influenciar eventos fisiológicos de diversas naturezas. Nem poderia ser diferente, se considerada a existência apenas de cinco classes hormonais principais e o número elevado de eventos bioquímico-fisiológicos conhecidos controlados pelos fitormônios. Conforme visto anteriormente, as citocininas influenciam a divisão e diferenciação celular, o estabelecimento de drenos e a diferenciação de cloroplastos, podendo esses efeitos ser atribuídos, respectivamente, à ação das citocininas de modo imediato sobre as ciclinas, genes homeóticos, invertases e fitocromos. Além disso, outros importantíssimos efeitos das citocininas poderiam ainda ser mencionados, como a germinação de sementes, a formação de gemas caulinares, o desestiolamento, a quebra da dominância apical, a inibição da senescência e a interação planta-patógeno. Conforme será visto adiante, alguns trabalhos têm associado ainda as Cks com a indução floral. Contudo, como a floração envolve processos dependentes de divisão celular, estabelecimento de drenos etc., os quais são induzidos por citocininas, é muito provável que estas desempenhem um papel indireto, não sendo o hormônio indutor desse processo propriamente dito.* Um fato curioso é que, em *Mercurialis annua*, uma Euphorbiaceae dióica, a t-zeatina é abundante em plantas femininas, enquanto o iP é predominante nas plantas masculinas (Durand & Durand, 1991). Tratamento de plantas masculinas com t-zeatina resultou na formação de flores femininas, mostrando assim um efeito do tipo de citocinina na determinação sexual dessa espécie.

Embora as citocininas possuam efeitos aparentemente diversos e desconexos, alguns deles, como a formação de gemas caulinares, por exemplo, podem estar integrados de forma razoavelmente coerente, conforme se procura evidenciar na Fig. 10.14.

Um outro fato relevante da ação hormonal é que, além de uma classe hormonal poder influenciar diferentes processos fisiológicos, a recíproca também é verdadeira, ou seja, um mesmo processo fisiológico pode ser influenciado por diferentes classes hormonais. Desse modo, antes de se discutirem outros efeitos das citocininas, será considerada, brevemente, a interação desses hormônios com outras classes hormonais.

*Muitos autores têm buscado o chamado “florigeno”, ou seja, o hormônio indutor da floração. Contudo, o mais provável é que a indução de flores seja um processo controlado por balanços entre mais de uma classe hormonal, assim como ocorre na indução de caules e raízes (Skoog & Miller, 1957), o qual será discutido adiante neste capítulo.

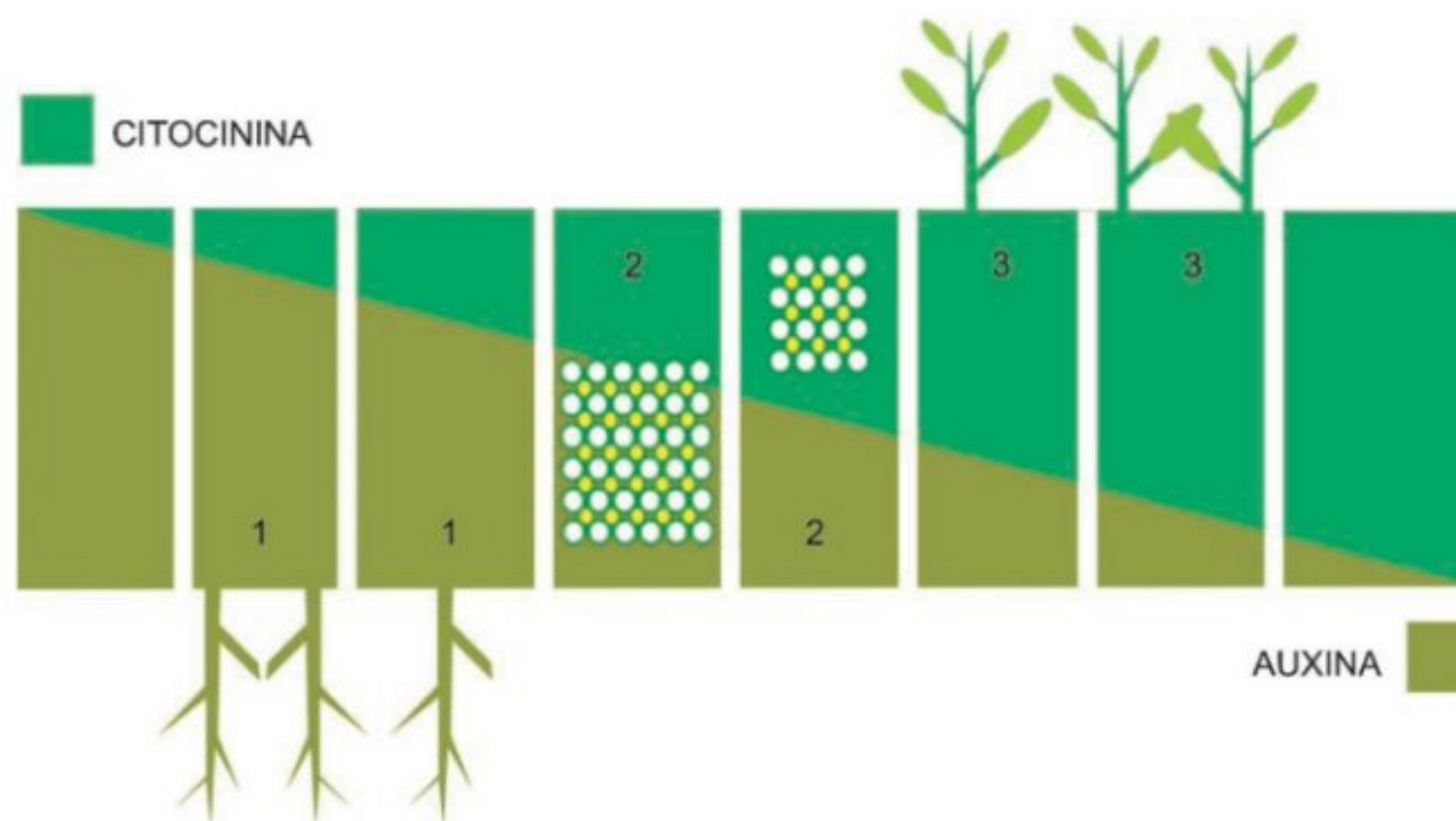
**FIGURA 10.14**

Integração presumível de alguns dos diversos efeitos das citocininas. A atuação das citocininas em alvos primários, como os genes homeóticos (*KNOTTED*), ciclinas, invertases e fitocromo, provocaria efeitos imediatos na diferenciação, divisão celular etc., os quais, por sua vez e de modo conjunto, promoveriam efeitos secundários e macroscópicos, como a formação de gemas caulinares.

Interação com outras classes hormonais

Dentre os fitormônios, a auxina é, de longe, a classe hormonal com maior interface com as citocininas. Trabalhos clássicos, realizados no laboratório do Dr. Folke Skoog, viriam a revelar, ainda nos anos 1950, que tanto a auxina quanto a citocinina são necessárias para estimular a divisão de células maduras, ou seja, a retomada desse processo em células que não mais se dividiriam (Das *et al.*, 1956). Todavia, apesar de a auxina atuar em sinergismo com a citocinina para estimular a divisão celular, essas classes hormonais atuam antagonisticamente no controle da iniciação de ramos e raízes em cultura de tecido (Skoog & Miller, 1957), bem como no estabelecimento da dominância apical. Cultivando medula de tabaco em meios de cultura onde se adicionaram dife-

rentes proporções de auxina e citocinina, Skoog & Miller (1957) estabeleceram que balanços hormonais com elevada proporção de citocinina favoreceram a diferenciação de gemas caulinares e que, de modo inverso, elevada proporção relativa de auxina induziu a diferenciação de raízes nos tecidos parenquimáticos da medula (Fig. 10.15). No caso de balanços hormonais intermediários, houve o favorecimento da divisão e expansão celular, formando um tecido denominado calo, sem que houvesse a indução de diferenciação de ramos ou raízes (Fig. 10.15). Esses resultados evidenciaram, pela primeira vez, que não há propriamente uma classe hormonal responsável pela formação de cada tipo de órgão, e sim um controle da formação destes através das proporções relativas entre diferentes classes hormonais.

**FIGURA 10.15**

Interação entre auxina e citocinina na indução de raízes (1), calos (2) e caules (3), segundo o modelo proposto por Skoog & Miller (1957). Cada retângulo representa um explante com um balanço auxina/citocinina endógeno específico, o qual costuma ser o reflexo das quantidades de hormônios adicionados ao meio de cultivo.

Pouco se conhece, até o momento, sobre os mecanismos moleculares da interação auxina–citocinina. Acredita-se que um dos possíveis pontos de interação poderia ser encontrado no próprio metabolismo de ambos os hormônios, e uma dessas classes hormonais influenciaria a atividade de enzimas envolvidas na biossíntese ou inativação da outra. Embora as evidências diretas para tal mecanismo ainda sejam incipientes, resultados interessantes foram obtidos em experimentos com plantas transgênicas. Verificou-se que plantas transgênicas de tabaco superexpressando o gene *ipt* para biossíntese de citocinina costumam ser menos sensíveis à aplicação de auxina (Li *et al.*, 1994), enquanto, de modo inverso, aquelas superexpressando o gene para inativação de citocininas (*ZOX1*) mostraram-se mais sensíveis à auxina (Werner *et al.*, 2001).

É de amplo conhecimento que tanto as auxinas quanto as citocininas, quando aplicadas em concentrações supra-ótimas, apresentam efeito marcante na inibição do crescimento de órgãos vegetais. Em ambos os casos, boa parte desse efeito inibitório é mediada pela indução da produção de etileno desencadeada pela enzima sintase do ACC (ver Cap. 13, Etileno). No caso específico das citocininas, essa parece ser uma das principais causas da forte inibição provocada por essa classe hormonal sobre o alongamento radicular. Desse modo, em raízes de *Arabidopsis*, o efeito de tratamentos com benziladenina (BA) é revertido pela aplicação de aminoetoxivinil glicina (AVG) e íons de prata (Ag^+) (Cary *et al.*, 1995), os quais são inibidores da biossíntese e da ação de etileno, respectivamente. Contudo, nem todo o efeito do BA pode ser atribuído ao estímulo na produção de etileno, pois a aplicação de BA pode inibir mais o alongamento radicular do que a simples aplicação de etileno, em concentrações nas quais ambos os tratamentos induzem a mesma quantidade de etileno endógeno, além do que o BA não muda a sensibilidade ao etileno. À luz desses resultados, poder-se-ia dizer que citocininas e etileno agem de modo sinérgico ou aditivo na inibição do alongamento caulinar. Por outro lado, essas duas classes hormonais são consideradas antagonísticas quanto ao efeito na senescência, sendo as citocininas um forte inibidor e o etileno um eficiente promotor desse importante evento fisiológico (ver Cap. 13, Etileno).

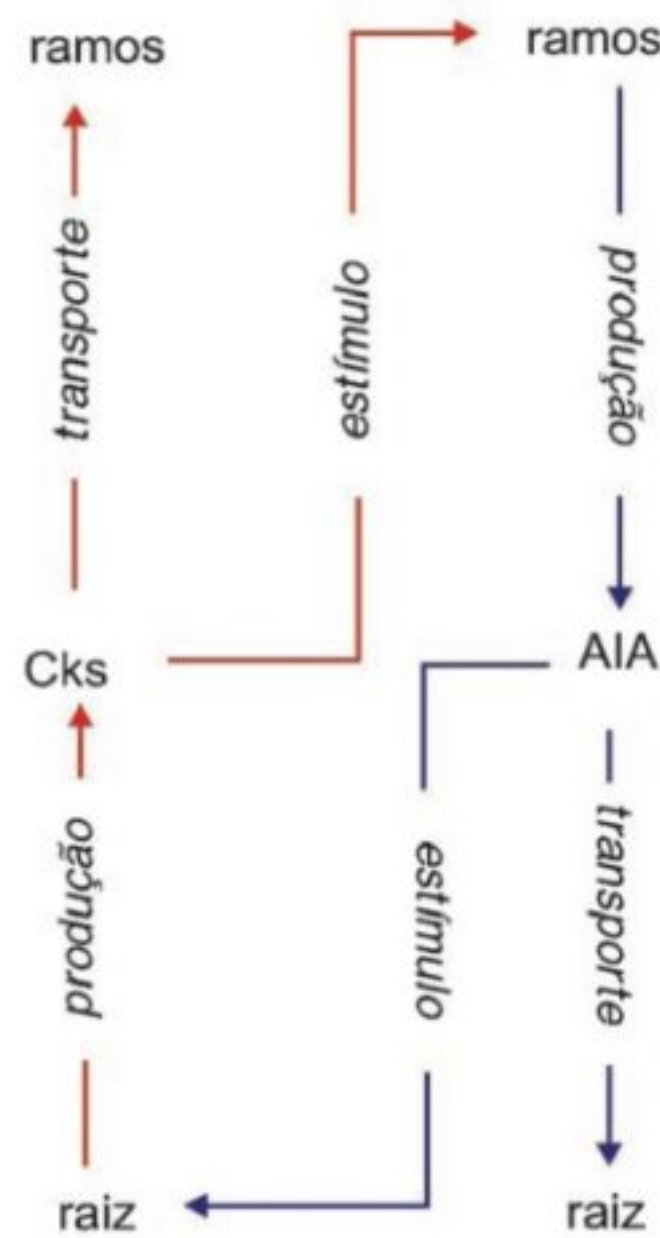
Além da auxina e do etileno, o ácido abscísico (ABA) também pode interagir com as citocininas, nesse caso de forma indireta. Deve-se considerar que, como o transporte das citocininas produzidas nas raízes para os caules é dependente da taxa transpiratória (via xilema), o ABA pode influenciar os níveis de citocininas na parte aérea, já que é um dos principais reguladores do fechamento estomático. A ocorrência de uma interação mais direta entre essas duas classes hormonais é sugerida pelo fato de o ABA ser um inibidor de regiões de replicação de DNA durante a mitose, tendo as citocininas justamente um efeito contrário.

Balanço auxina/citocinina e o desenvolvimento vegetal

Uma das principais características do desenvolvimento das plantas superiores, e que as distingue dos animais, é o fato de

esse desenvolvimento ocorrer predominantemente num estágio pós-embrionário, ou seja, a maior parte do desenvolvimento ontogenético se dá ao longo da vida da planta, com a formação contínua e repetitiva de órgãos, como ramos, raízes, folhas, flores e frutos. A organogênese continuada das plantas é o resultado da manutenção, mesmo na fase adulta, de tecidos embrionários denominados meristemas caulinar e radicular. Pouco depois da descoberta da auxina (1934) e das citocininas (1955), foi postulado que essas duas classes hormonais, agindo conjuntamente, controlariam o desenvolvimento vegetal atuando diretamente na definição dos meristemas e, portanto, no tipo de órgão – caule ou raiz – a ser formado (Skoog & Miller, 1957). Ao contrário das auxinas, normalmente associadas à indução de raízes, um balanço auxina/citocinina favorável às citocininas induz a formação de gemas caulinares tanto *in vitro* quanto *ex vitro*. A propósito, com relação ao efeito morfogenético desse balanço, é mister enfatizar que, sob condições normais, a concentração absoluta da citocinina, imprescindível à formação das gemas, não precisa ser necessariamente superior à da auxina. Existem consideráveis evidências de que esse efeito diferencial de auxinas e citocininas na indução de caules e raízes é importante para o desenvolvimento integrado do vegetal. Desse modo, as citocininas produzidas nas raízes podem induzir a formação de ramos cujos ápices são centros produtores de auxina, a qual, por sua vez, é necessária à formação de mais raízes (Fig. 10.16). Isso posto, não seria exagero dizer que a arquitetura final da planta depende, em boa parte, da interação entre os sistemas caulinares e radiculares, e que a interação entre a citocinina e a auxina ocupa uma posição destacada nesse processo. O crescimento integrado e equilibrado entre caules e raízes é de imensa importância, pois esses órgãos possuem funções complementares na sobrevivência do vegetal.

Embora as primeiras evidências de que o balanço auxina/citocinina controlava o desenvolvimento vegetal tenham surgido a partir de estudos com hormônios exógenos, ou seja, aplicados a tecido medular de caule de tabaco (Skoog & Miller, 1957), de modo geral a correta interpretação desse tipo de abordagem experimental ou prática sofre uma série de limitações. Algumas dessas limitações são a falta de conhecimento quanto à capacidade de absorção, transporte e inativação pelo tecido no qual o hormônio foi aplicado, além das alterações que o hormônio exógeno pode provocar no nível hormonal endógeno. Atualmente, duas abordagens têm sido empregadas para sobrepor essas limitações. Uma delas é a dosagem do conteúdo hormonal endógeno nos tecidos (Peres *et al.*, 1997) e a outra é através do uso de plantas transgênicas nas quais se introduzem genes que alteram o metabolismo ou a sensibilidade hormonal. Como os hormônios vegetais são mensageiros químicos presentes em concentrações muito reduzidas nos tecidos (usualmente 10^{-9} moles/g de tecido fresco), sua quantificação torna-se dependente do domínio de técnicas analíticas muito sensíveis como a cromatografia do tipo HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) e o uso de anticorpos em ensaio do tipo ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), além de espectrometria de massas (MS) acoplada à cromatografia gasosa (GC) ou ao HPLC.

**FIGURA 10.16**

Crescimento integrado entre caules e raízes promovido pelos mecanismos de produção, transporte e efeito das citocininas (Cks) e auxina (AIA). As Cks produzidas nos ápices radiculares e transportadas pelo xilema induzem a formação de ramos. Os novos ramos são fontes de AIA que, por sua vez, estimulam a produção de novas raízes. Na foto, podemos observar uma raiz de *Lycopersicon hirsutum*, a qual formou gemas caulinares quando a parte aérea foi removida. Note que os novos ramos se formaram após o estabelecimento de um dreno (intumescimento) na raiz.

A despeito de os estudos utilizando determinação do conteúdo hormonal endógeno terem permitido um avanço substancial, deve-se considerar que também eles estão sujeitos a limitações. Uma dessas limitações é não se saber se o hormônio quantificado encontrava-se ativo ou inativo. Outra limitação é a perda de informação quanto à compartimentarização interna (celular e tissular), já que, mesmo se utilizadas amostras muito pequenas de tecidos (mg), compartimentos heterogêneos são misturados durante os processos de extração. Desse modo, citocininas inativas presentes nos vacúolos dos tecidos dosados podem estar sendo contabilizadas como ativas. Por sua vez, os estudos envolvendo produção de plantas transgênicas requerem que os genes a serem introduzidos estejam previamente isolados e clonados em vetores de transformação (plasmídeos multiplicados em *Escherichia coli* e/ou *Agrobacterium*). Além disso, sistemas para introdução desses genes nas plantas necessitam ser otimizados. A seguir, serão apresentados alguns exemplos de plantas transgênicas nas quais se introduziram genes que alteram a sensibilidade ou o metabolismo de citocininas e suas consequências sobre o desenvolvimento do vegetal.

As primeiras plantas transgênicas com alterações no balanço auxina/citocinina foram resultantes da introdução do gene *IPT* de *Agrobacterium tumefaciens*. Esse gene foi introduzido utilizando-se diferentes promotores (seqüência responsável pela indução da transcrição do gene em estudo), o que causou certa variação no fenótipo de cada tipo de transgênico. As características mais comumente encontradas em tais plantas foram a inibição da formação de raízes e a perda de dominância apical, devido ao desenvolvimento de gemas caulinares axilares. A não-formação de raízes em plantas transgênicas expressando o gene *IPT*, sobretudo naquelas onde esse gene foi ligado a um promotor forte (35S de CaMV), obrigava a enxertia das plantas transgênicas sobre plantas normais, visando a sobrevivência das primeiras. Em outros estudos, o gene *IPT* foi fundido com promotores induzidos para que as citocininas passassem a ser produzidas somente quando se desse um estímulo. Nesses estudos, plantas transgênicas crescendo sem ter o estímulo para expressão de *IPT* apresentaram fenótipo normal, não necessitando mais ser enxertadas para que tivessem um sistema radicular. Um desses promotores, o qual é induzido por choque

térmico, ou *heat shock* (HS), foi utilizado para produzir plantas transgênicas de *Arabidopsis*. Nessas plantas expressando o gene *HS-IPT*, a aplicação de choques térmicos (exposição a 40°C por 1 hora, todos os dias) induziu alterações fenotípicas (ex.: perda da dominância apical) não apresentadas por um único tratamento prolongado. Esses resultados sugerem que, em alguns efeitos fisiológicos, as Cks agem como um reostato,* regulando a intensidade de um sinal, e não como um interruptor do tipo liga/desliga (Rupp *et al.*, 1999). Resultados sugestivos também foram encontrados quando o gene *IPT* foi levado a se manifestar apenas em determinadas partes de plantas transgênicas de tabaco (Estruch *et al.*, 1991). Em tecidos nos quais se verificou essa ocorrência, como foi o caso das folhas, houve acumulação local e restrita de citocininas, o que culminou na formação de gemas caulinares em pontos diferentes na própria lâmina foliar. Esse fenômeno, conhecido como epifilia, ocorre naturalmente em folhas de fortuna (*Bryophyllum*) e *Kalanchoe*. Curiosamente, quando a acumulação de citocininas ocorreu na planta como um todo, não houve ocorrência de epifilia. A constatação de que o acúmulo transitório de Cks não tem o mesmo efeito que o acúmulo constante, e de que há diferenças também quanto à acumulação local ou na planta como um todo, sugere que a ação hormonal, sobretudo o efeito do balanço auxina/citocinina no desenvolvimento, depende do estabelecimento de gradientes espaciais e temporais. Os principais responsáveis pelo estabelecimento desses gradientes seriam as peculiaridades da síntese e transporte, além das enzimas de inativação de citocininas, discutidas no início deste capítulo.

Os primeiros genes responsáveis pela inativação de citocininas foram isolados em 1999 (Houba-Hérin *et al.*, 1999; Martin *et al.*, 1999a; 1999b), possibilitando a alteração do conteúdo endógeno de citocininas de um modo inverso ao que já havia sido feito utilizando-se o gene *IPT*. Nesse sentido, tabaco transgênico superexpressando o gene para a oxidase de citocinina mostrou, pela primeira vez, o fenótipo de plantas com níveis reduzidos de Cks. Esse ineditismo se deve ao fato de que, de modo diferente de outros hormônios, não existem compostos químicos que possam ser utilizados como inibidores efetivos da biossíntese ou ação de Cks. As referidas plantas mostraram-se anãs como consequência de um retardamento grave do desenvolvimento dos ramos, incluindo a presença de entrenós curtos, folhas lanceoladas e epinásticas e redução da dominância apical (este último item será abordado mais adiante, neste mesmo capítulo). Em contrapartida, o crescimento do sistema radicular foi aumentado, e o número de raízes laterais e adventícias também aumentou, o alongamento das raízes primárias foi mais rápido e primórdios de raízes laterais foram notados próximo do ápice radicular (Werner *et al.*, 2001). Uma outra maneira de diminuir o conteúdo endógeno de citocininas seria através da superexpressão de genes para as enzimas que conjugam cito-

cininas ativas. Isso foi demonstrado com plantas transgênicas de tabaco superexpressando o gene *ZOG1*, as quais formaram raízes aéreas nos caules durante as primeiras duas semanas, crescendo sob alta umidade. Além disso, essas plantas também apresentaram reduzida dominância apical e entrenós curtos (Mok *et al.*, 2000).

Uma característica que chama a atenção em todos os exemplos de plantas transgênicas com alterações no conteúdo de citocininas e, conseqüentemente, no balanço auxina/citocinina é o fato de tanto plantas transgênicas com excesso (Medford *et al.*, 1989; Rupp *et al.*, 1999) quanto com falta (Mok *et al.*, 2000; Werner *et al.*, 2001) de Cks apresentarem diminuição da dominância apical. A interpretação correta de tais resultados exige um exame mais detalhado do processo de dominância apical.

No processo de dominância apical típico, o ápice em crescimento de um caule inibe o crescimento das gemas laterais na mesma planta. A explicação mais difundida para a dominância apical é a hipótese da inibição pela auxina, segundo a qual esse hormônio, produzido no ápice, mover-se-ia basipetamente (do alto para baixo) para as gemas laterais e inibiria seu crescimento. Uma das evidências para essa hipótese é a demonstração de que a perda da dominância apical promovida pela decapitação do ápice (supressão da síntese de auxina) é recuperada pelo tratamento da planta decapitada com auxina. Contudo, essa explicação não contempla a constatação de que o efeito inibitório da auxina vinda do ápice, ou quando aplicada, pode ser revertido pela aplicação de citocininas diretamente sobre as gemas laterais. Isso sugere que a dominância apical é uma típica resposta ao balanço auxina/citocinina, assim como outros processos do desenvolvimento vegetal. Desse modo, um melhor entendimento da dominância apical ocorreu quando se constatou que, em plantas intactas, as citocininas vindas das raízes tendem a se acumular nos ápices produtores de auxina, promovendo um balanço auxina/citocinina favorável ao seu desenvolvimento. Com a remoção do ápice caulinar, as citocininas passam a se acumular nas gemas laterais, promovendo seu desenvolvimento. Há suspeitas de que a própria auxina produzida no ápice caulinar controle o conteúdo de citocininas que chegam até as gemas axilares. Em plantas intactas crescendo ativamente, o acúmulo de auxina e citocininas na gema apical poderia levar ao seu desenvolvimento simplesmente promovendo divisão e expansão celular, além do estabelecimento de um dreno nessa região em detrimento das gemas laterais. Tanto a retirada do ápice quanto a aplicação de citocininas nas gemas laterais deslocariam o dreno e a dominância seria quebrada. De igual modo, a aplicação de auxina na ponta de plantas decapitadas manteria o dreno e a dominância. Por esse mecanismo, vemos que a dominância apical depende da formação de gradientes internos de auxina e citocininas para que os drenos sejam estabelecidos. A ausência desses gradientes em plantas transgênicas, devido à expressão continuada dos genes de biossíntese ou inativação de citocininas na planta como um todo, explicaria a reduzida dominância apical verificada tanto em plantas com níveis elevados quanto com níveis baixos desse hormônio.

*O reostato é, basicamente, uma resistência de valor variável entre dois limites utilizada para controlar a intensidade de uma corrente elétrica. Exemplos de reostatos são os botões de volume dos rádios e aparelhos de TV antigos.

Citocininas na interação entre os vegetais e o ambiente

Conforme visto no item anterior, a citocinina, ou, mais precisamente, o balanço auxina/citocinina, é essencial para o desenvolvimento pós-embrionário dos vegetais. Esse tipo de desenvolvimento, envolvendo a formação de órgãos ao longo de todo o ciclo de vida, por si só já constitui uma resposta às variações do ambiente. Dessa forma, os vegetais, embora sejam organismos sésseis, podem interagir com o ambiente através da indução ou repressão dos processos que levam à formação de novos tecidos e órgãos, de modo a garantir sua sobrevivência e reprodução. As citocininas estão envolvidas intensamente na resposta das plantas a, pelo menos, quatro estímulos externos: luz, temperatura, nutrientes e interação com outros organismos.

LUZ

Com relação à luz, são conhecidos os efeitos das citocininas na diferenciação de pró-plastídeos em cloroplastos e biossíntese de clorofila. A aplicação de citocininas em plântulas mantidas no escuro tende a mimetizar o efeito da luz na promoção da abertura e expansão dos cotilédones e na inibição da expansão celular exagerada dos caules, a qual é conhecida como estiolamento. Contudo, é interessante notar que, em plantas de *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae) transferidas para o escuro, a retomada da atividade dos meristemas apicais e laterais, os quais posteriormente originam ramos estiolados (Fig. 10.17), coincide com uma elevação rápida de cerca de oito vezes na concentração de citocininas endógenas (Suzuki *et al.*, 2004). No referido experimento, a elevação transitória do nível endógeno de citocinina parece estar associada à quebra da dominância do pseudobulbo, um órgão de reserva em orquídeas, e ao subsequente estabelecimento de novos drenos necessários ao desenvolvimento das gemas caulinares, as quais, na ausência de luz, posteriormente crescem de modo estiolado.

NUTRIENTES MINERAIS

Um dos principais nutrientes com os quais as citocininas interagem é o nitrogênio. Coincidentemente, a clorose, bem como a aceleração da senescência das folhas devido à deficiência de N, lembra os aspectos adquiridos por tecidos com baixos níveis de citocininas. Já foi sugerido que, como as citocininas são compostos nitrogenados (adenina), a deficiência de nitrogênio poderia ter reflexo direto na biossíntese desse hormônio. Levando-se em conta que o nitrogênio normalmente equivale a 1,5% da matéria seca das plantas, e que a porcentagem de citocininas nos tecidos vegetais não chega à milionésima parte desse valor, é pouco provável que uma deficiência de nitrogênio possa vir a ser limitante para a biossíntese desse fitormônio. Tal constatação leva à postulação de que a interação entre essas duas substâncias deve se dar, portanto, em um outro nível, este certamente mais complexo.



FIGURA 10.17

Formação de ramos laterais estiolados (estruturas brancas) em pseudobulbo de *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae), após 20 dias da transferência do frasco do claro para o escuro. Dosagens das citocininas endógenas mostraram uma pronunciada elevação nos seus teores em comparação às plantas mantidas no claro. (Foto do Dr. Rogério M. Suzuki.)

Uma interação possível poderia dar-se através da regulação das enzimas do metabolismo de nitrogênio. Nesse sentido, existem evidências de que as citocininas são ativadoras da enzima redutase do nitrato. Além disso, já se constatou, em plantas de milho, que a aplicação de nitrato leva temporariamente ao acúmulo de Cks primeiro nas raízes, depois na solução xilemática e, finalmente, nas folhas (Takei *et al.*, 2001b). Estudos subsequentes desse grupo de pesquisadores com plantas de *A. thaliana* (Takei *et al.*, 2004) vieram mostrar que a presença do íon NO_3^- estimulava, significativamente, a expressão do gene *AtIPT*, o qual, conforme já mencionado anteriormente, é responsável pela codificação da enzima chave na síntese de citocininas: a isopentenil transferase. Dentre os vários genes estudados dessa família, o *AtIPT3* foi o que se mostrou mais responsivo ao NO_3^- , enquanto o *AtIPT5* era mais efetivo em tratamentos prolongados tanto com NO_3^- quanto com NH_4^+ . Isso sugere que as plantas elevariam a concentração de Cks nas raízes em resposta ao nitrato e ao amônio, sendo essa classe hormonal posteriormente transportada para os caules. Assim, as Cks podem representar um sinal de longa distância indicando a disponibilidade de nitrogênio da raiz para o caule, possivelmente para coordenar o desenvolvimento

dessas duas partes complementares no vegetal. Essa constatação está de acordo com o amplo efeito que a adubação nitrogenada pode apresentar sobre as plantas, sob a forma de maior vigor, esverdeamento foliar e iniciação de novas gemas caulinares e ramos (quebra da dominância apical).

TEMPERATURA

Há boas evidências disponíveis do efeito da temperatura sobre o teor das citocininas endógenas. Estudos realizados com algumas espécies de orquídeas tropicais têm evidenciado um efeito promotor de temperaturas baixas na floração dessas plantas (vernalização), bem como, paralelamente, nos teores endógenos de suas citocininas. Assim, plantas híbridas de *Dendrobium nobile* apresentaram um incremento gradual nos níveis de zeatina, nas gemas laterais encontradas ao longo do pseudobulbo, a partir de fevereiro (verão) até junho (inverno – Região Sudeste do Brasil), coincidindo o último mês com o início do desenvolvimento das gemas florais. Corroborando o efeito da diminuição da temperatura na elevação dos teores de citocininas endógenas ao longo de vários meses, estudos envolvendo tratamentos termoperiódicos mais curtos, de 12 horas (10°C luz/25°C escuro), aplicados nessas mesmas plantas ao longo de 30 dias, resultaram em uma elevação altamente significativa de citocininas, principalmente das formas livres e ribosídicas de zeatina e isopenteniladenina, tanto nas gemas laterais quanto nas folhas dessa orquídea, tendo, nesse caso, a concentração de zeatina alcançado valores expressivamente superiores aos seus níveis iniciais (Fig. 10.18). A aplicação de benziladenina em plantas de *Dendrobium*, bem como em outros gêneros de orquídeas tropicais, tem-se mostrado eficiente na floração. Mesmo

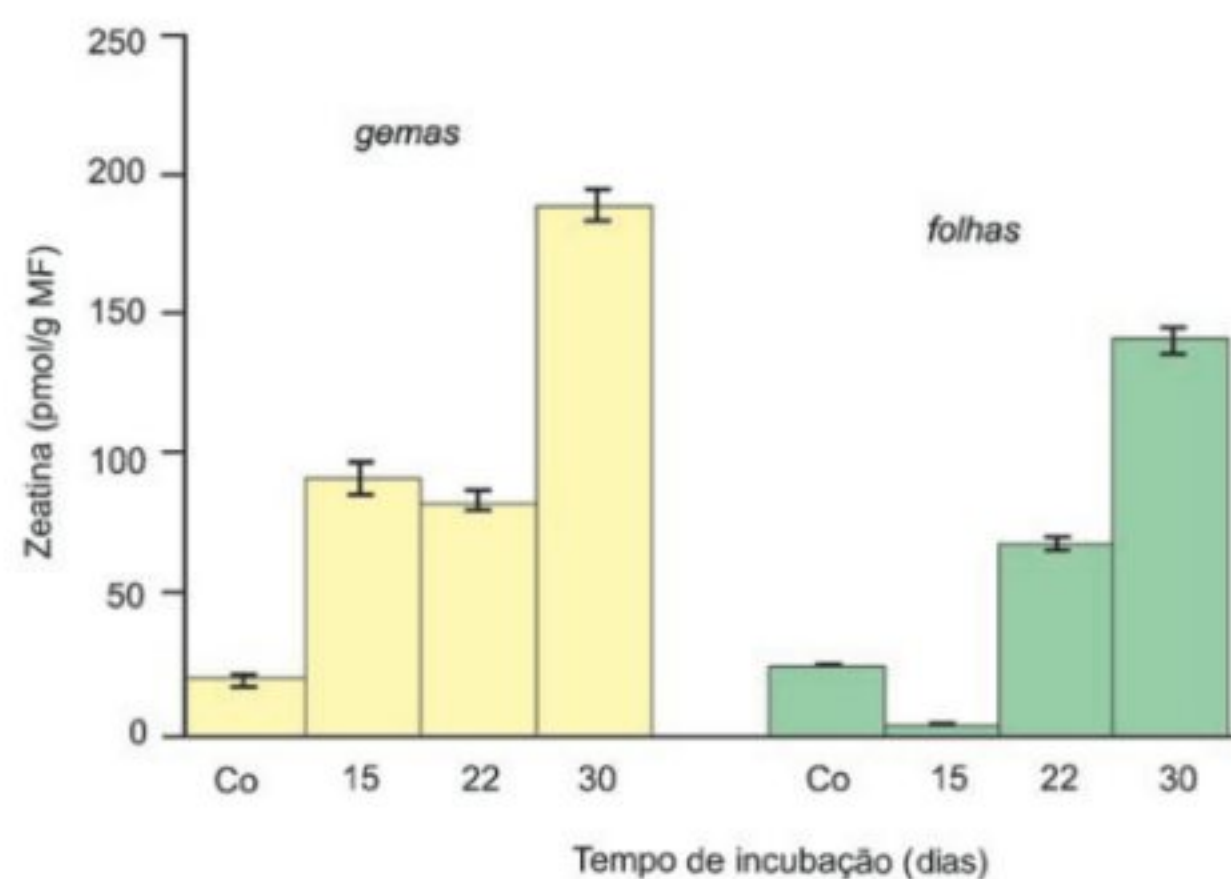


FIGURA 10.18

Variações dos teores endógenos de zeatina em gemas laterais e folhas de plantas de *Dendrobium* "Second Love" (Orchidaceae), incubadas a 10°C (escuro) e 25°C (claro), durante 30 dias. MF, matéria fresca; Co, controle sem incubar. As barras indicam o erro padrão das médias. (Kátia O. Campos, dissertação – Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP.)

pequenas porções caulinares de plantas híbridas de *D. nobile*, ainda no estado juvenil, podem ser induzidas a florescer *in vitro*, quando incubadas na presença de thidiazuron, uma potente citocinina sintética (Ferreira *et al.*, 2006). Reforçando ainda o efeito promotor de tratamento termoperiódico sobre os níveis endógenos de citocinina, plantas de *Phalaenopsis* (Orchidaceae) submetidas a temperaturas elevadas apresentaram uma diminuição nos teores dessas substâncias paralelamente à inibição da floração (ver Cap. 18, Floração).

Apesar do efeito promotor das citocininas endógenas e exógenas na floração das plantas orquídeas supramencionadas, os resultados disponíveis até o presente não são ainda consistentes o bastante para se inferir sobre a atuação efetiva desse grupo de hormônios na passagem dramática do estado vegetativo para o estado floral. Os estudos indicam somente que as citocininas participam de alguma forma do desenvolvimento de gemas, estas já no estado floral (portanto, já induzidas), provavelmente por meio da retomada das divisões celulares de seus meristemas. O(s) sinal(is), responsável(is) pela indução floral propriamente dita permanece(m) ainda desconhecido(s).

INTERAÇÃO COM MICROORGANISMOS

Quanto à interação das plantas com outros organismos, é bastante conhecido que a formação de galhas provocadas por larvas de insetos, fungos e bactérias (ex.: *Agrobacterium*) envolve a produção de citocininas. Enquanto certos microorganismos e larvas de insetos produzem e excretam citocininas, em *Agrobacterium* há a passagem de um gene de produção de citocininas (IPT) para o tecido infectado, modificando-o geneticamente. Outra infecção deletéria à planta hospedeira é a formação descontrolada de ramos laterais (fasciação), nas chamadas vassouras-de-bruxa, provocadas por fungos produtores de citocininas (Fig. 10.19). Além das fasciações, os fungos produtores de citocininas também podem induzir a formação das conhecidas "ilhas verdes" (Fig. 10.19) nos locais infectados. A inibição da senescência e o estabelecimento de drenos característicos das "ilhas verdes", assim como a promoção da organogênese nas galhas e fasciações, são conhecidos efeitos das citocininas e, obviamente, favorecem o aporte de nutrientes para os organismos que se instalam nos tecidos vegetais. Há, todavia, interações que resultam no estabelecimento de simbioses benéficas, conforme ocorre em raízes de plantas leguminosas e *Rhizobium* sp., bactéria fixadora de nitrogênio. Nesse caso, quando já no interior do parênquima radicular, as citocininas produzidas pela bactéria levam à retomada das divisões celulares, dando início à formação do nódulo radicular (ver Cap. 3, Fixação do Nitrogênio).

CITOCININAS E BIOTECNOLOGIA

Ao longo deste capítulo, pode-se perceber que as citocininas são uma classe hormonal intensamente ligada à biotecnologia de plantas, já que são pré-requisito indispensável para a divisão celular, possibilitando a multiplicação de células com a formação de tecidos e órgãos *in vitro*. Entre os processos biotecnológicos



FIGURA 10.19

Papel das citocininas na interação planta–microorganismo. A foto superior evidencia a formação de “ilhas verdes” nos locais onde há lesões provocadas por fungos em folha de mangaueira (*Mangifera indica*). Abaixo pode ser observada a chamada “vassoura-de-bruxa” do cacaueteiro (*Theobroma cacao*). A “vassoura-de-bruxa” consiste em uma intensa brotação, a qual está relacionada à produção de citocininas pelo fungo *Crinipellis perniciososa*. (Foto: Prof. Dr. Antônio Figueira – CENA/USP.)

dependentes da cultura *in vitro*, pode-se destacar a clonagem de plantas (micropropagação), a obtenção de plantas haplóides, o cultivo e a fusão de protoplastos (células destituídas de parede celular), a produção de substâncias comercialmente importantes, a partir do cultivo de células e órgãos, e a produção de plantas transgênicas.

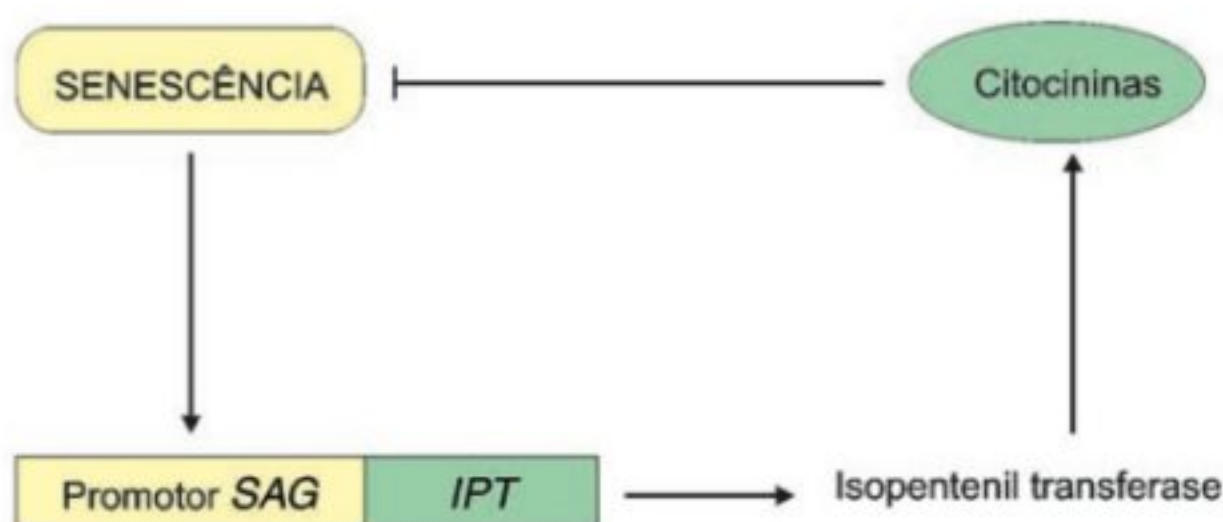
Através da micropropagação, um elevado número de mudas de espécies frutíferas, ornamentais ou hortícolas podem ser produzidas *in vitro* a partir de células, tecidos e órgãos de uma planta doadora (matriz). Normalmente, a planta doadora é um exemplar portador de características valiosas, previamente selecionadas, e sua micropropagação possibilita a obtenção de um grande número de mudas geneticamente idênticas em um tempo e espaço reduzidos. Por meio ainda da micropropagação, é perfeitamente viável a eliminação de patógenos endofíticos, como vírus, bactérias e fungos, que causam sérios prejuízos ao crescimento e à produção das plantas infectadas. Nesse caso, a obtenção de plantas saudáveis é conseguida pelo isolamento e cultivo de ápices caulinares muito reduzidos, já que os meristemas geralmente são livres desses contaminantes. É quase certo que a batatinha e os morangos encontrados hoje em mercados e feiras tenham sido produzidos

por plantas que, por sua vez, foram geradas a partir de matrizes clonadas em um laboratório comercial de biotecnologia. Tais laboratórios são grandes importadores de citocininas, e pode-se dizer que essas substâncias, cujos preços podem variar, em moeda norte-americana, desde US\$ 15,00 o grama (BAP) até US\$ 3,00 o miligrama (zeatina), fazem parte dos custos de produção de muitos alimentos que hoje consumimos.

A aplicação de citocininas em anteras imaturas cultivadas *in vitro* pode alterar a via normal de desenvolvimento dos seus micrósporos, os quais normalmente dariam origem aos grãos de pólen, induzindo a formação de plantas haplóides. Uma das vantagens das plantas haplóides é que, ao se restituir o conjunto complementar de cromossomos nesses indivíduos, através de tratamento com uma substância denominada colchicina, as plantas resultantes serão 100% homozigotas. As sementes produzidas em plantas homozigotas gerarão outras plantas idênticas à planta-mãe, tendo as mesmas vantagens da propagação clonal convencional ou por micropropagação.

Tanto a fusão de protoplastos quanto a produção de plantas transgênicas são estratégias utilizadas para a introdução de genes de interesse em espécies cultivadas. Esses dois métodos possibilitam a passagem de genes entre espécies que não poderiam ser intercruzadas. Em ambos os processos, o evento ocorre no nível celular e, portanto, há necessidade de obtenção de uma planta inteira a partir da referida célula. A regeneração de uma nova planta a partir de uma célula envolve divisão e diferenciação *in vitro*, sendo os dois processos dependentes do emprego de citocininas.

O efeito marcante das citocininas no estabelecimento de drenos e na inibição da senescência também sugere importantes aplicações biotecnológicas. Em ambientes naturais, a senescência dos órgãos vegetais possui uma importância ecológica clara se considerarmos que, por exemplo, quanto mais tempo viver uma folha, maior será a exposição a fatores que limitarão sua fotossíntese, tais como as intempéries, os patógenos e as pragas. Já no ambiente agrícola, onde essas limitações tendem a ser minimizadas com o uso do cultivo protegido (estufas agrícolas) e aplicação de inseticidas e fungicidas, pode ser compensatório inibir a senescência e estender o período produtivo de órgãos fotossintéticos. Uma das maneiras de conseguir isso poderia ser a produção de plantas transgênicas com superprodução de citocininas. Contudo, como o excesso de citocininas pode afetar negativamente outros processos do desenvolvimento, seria necessário que o sistema fosse auto-regulado de tal modo a não permitir o acúmulo excessivo de citocininas e a inibir somente a senescência. Tal especificidade foi conseguida em um sistema onde o gene *IPT* foi ligado ao promotor *SAG* (*Senescence-Associated Genes*), o qual, conforme indicado pelo próprio nome, é induzido pela senescência (Gan & Amasino, 1995). Dessa forma, no referido sistema, o início da senescência induz o promotor *SAG*, o qual ativa o gene *IPT*, desencadeando a produção de citocininas e, por conseguinte, a inibição da senescência e a produção em excesso das próprias citocininas (Fig. 10.20). As plantas transgênicas expressando esse sistema possuem folhas que permanecem funcionais na realização da fotossíntese por um período prolon-

**FIGURA 10.20**

Sistema auto-regulado, para inibição de senescência em folhas de tabaco, representado pela ligação do promotor SAG ao gene IPT, responsável pela síntese da enzima isopentenil transferase. Nesse sistema, o início da senescência desencadeia a produção de citocininas, as quais são inibidoras de senescência e, por isso, previnem sua própria produção em excesso (“feedback negativo”). (Modificado de Gan & Amasino, 1995. As setas indicam ativação e as barras inibição.)

gado, aumentando assim a produção de matéria seca da planta como um todo.

É de amplo conhecimento que o aumento da produção de matéria seca (MS) em si não significa aumento de produtividade, a menos que esse aumento seja na parte colhida da planta, o que afeta positivamente o chamado índice de colheita (relação entre a MS da parte colhida e a MS total). De modo semelhante ao sistema discutido aqui, a ligação do gene IPT a promotores que se expressam nas partes colhidas das plantas cultivadas poderia deslocar a produção de citocininas e, conseqüentemente, o estabelecimento de drenos para essas partes. Um exemplo disso foi a produção de plantas transgênicas de tomateiro expressando o gene IPT ligado a um promotor que só se expressa em tecido de ovário (Martineau *et al.*, 1995). Nessas plantas, o acúmulo de citocininas nos ovários aumentou a força do dreno, fazendo com que os frutos formados acumulassem mais fotoassimilados, o que se traduziu em um aumento do chamado Brix, índice que indica o teor de sólidos solúveis, principalmente açúcares. No referido experimento, não houve um aumento no tamanho do fruto, já que as plantas transgênicas tenderam a produzir um maior número de frutos por planta, devido a um maior “pegamento” de ovários fecundados. Contudo, um dos parâmetros que mais se buscam na produção de tomate e outros frutos é justamente o aumento do Brix.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste capítulo, procurou-se destacar, logo de início, como uma única pergunta sobre qual seria o “fator” responsável pela divisão celular acabou culminando na geração de todo um corpo de conhecimentos que permite, hoje, não só entender melhor o desenvolvimento vegetal, como também fazer manipulações biotecnológicas que têm revolucionado a agricultura. Certamente, o gerador de todo esse processo foi o brilhante cientista

Dr. Folke Skoog (1909–2001), o descobridor das citocininas, cujo insofismável mérito foi ter elaborado uma grande pergunta e desenvolvido um bom modelo experimental para respondê-la. Isso posto, é dispensável ressaltar a importância da pesquisa básica para permitir um salto qualitativo e conceitual no desenvolvimento de novas tecnologias.

Por outro lado, tem sido freqüente a constatação de que avanços tecnológicos também podem gerar novos conhecimentos básicos. Desse modo, conforme visto neste capítulo, duas recentes abordagens tecnológicas, a obtenção de plantas transgênicas e a disponibilidade das seqüências de genomas inteiros, têm potencializado as pesquisas sobre o metabolismo e o modo de ação das citocininas. Nesse sentido, uma abordagem promissora deverá ser a obtenção de novos mutantes e plantas transgênicas correspondentes aos milhares de genes de funções ainda desconhecidas no genoma de algumas plantas-modelos. Tal abordagem genética, aliada a estudos bioquímicos envolvendo principalmente a determinação do conteúdo endógeno e da dinâmica (biossíntese, transporte e inativação) hormonal, deverá fazer nossos conhecimentos sobre as citocininas e o próprio controle do desenvolvimento vegetal aumentar consideravelmente nos próximos anos.

REFERÊNCIAS

- Cary AJ, Liu E, Howell SH. Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol*, 1995; 107:1075-82.
- Das NK, Patau K, Skoog F. Initiation of mitosis and cell division by kinetin and indoleacetic acid in excised tobacco pith tissue. *Physiol Plant*, 1956; 9:640-51.
- Durand B, Durand R. Sex determination and reproductive organ differentiation in *Mercurialis*. *Plant Sci*, 1991; 80:49-65.
- Estruch JJ, Prinsen E, Van Onckelen H, *et al.* Viviparous leaves produced by somatic activation of an inactive cytokinin-synthesizing gene. *Science*, 1991; 254:1364-7.
- Faiss M, Strnad M, Redig P, *et al.* Chemically induced expression of the *rolC*-encoded β -glucosidase in transgenic tobacco plants and analysis of cytokinin metabolism: *rolC* does not hydrolyze endogenous cytokinin glucosides in planta. *Plant J*, 1996; 10:33-46.
- Fankhauser C. Light perception in plants: cytokinins and red light join forces to keep phytochrome B active. *Trends in Plant Science*, 2002; 7:143-5.
- Ferreira WM, Kerbauy GB, Kraus JE, Pescador R, Suzuki RM. Thidiazuran influences the endogenous levels of cytokinins and IAA during the flowering of isolated shoots of *Dendrobium*. *J Plant Physiol*, 2006; 1126-34.
- Gan S, Amasino RM. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science*, 1995; 270:1986-7.
- Hall RH. Cytokinins as a probe of developmental processes. *Ann Rev Plant Physiol*, 1973; 24:415-44.
- Helliwell CA, Chin-Atkins AN, Wilson IW, *et al.* The *Arabidopsis* *AMP1* gene encodes a putative glutamate carboxypeptidase. *Plant Cell*, 2001; 13:2115-25.
- Hewelt A, Prinsen E, Thomas M, *et al.* Ectopic expression of maize *knotted1* results in the cytokinin-autotrophic growth of cultured tobacco tissues. *Planta*, 2000; 210:884-9.
- Houba-Hérin N, Pethe C, D'Alayer J, Laloue M. Cytokinin oxidase from *Zea mays*: purification, cDNA cloning and expression in moss protoplasts. *Plant J*, 1999; 17:615-26.

- Hwang I, Sheen J. Two-component circuitry in *Arabidopsis* cytokinin signal transduction. *Nature*, 2001; 413:383-9.
- Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, et al. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature*, 2001; 409:1060-3.
- Kakimoto T. Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate:ATP/ADP isopentenyltransferases. *Plant Cell Physiol*, 2001; 42:677-85.
- Letham DS. Cytokinins from *Zea mays*. *Phytochemistry*, 1973; 12:2445-55.
- _____, Palni MS. The biosynthesis and metabolism of cytokinins. *Annu Rev Plant Physiol*, 1983; 34:163-97.
- Li Y, Shi X, Strabala TJ, et al. Transgenic tobacco plants that overproduce cytokinins show increased tolerance to exogenous auxin and auxin transport inhibitors. *Plant Sci*, 1994; 100:9-14.
- Martin RC, Mok MC, Mok DWS. A gene encoding cytokinin enzyme zeatin O-xylosyltransferase of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol*, 1999a; 120:553-7.
- _____. Isolation of a cytokinin gene, ZOG1, encoding zeatin O-glucosyltransferase from *Phaseolus lunatus*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999b; 96:284-9.
- Martineau B, Summerfelt KR, Adams DF, Deverna, JW. Production of high solids tomatoes through molecular modification of levels of the plant growth regulator cytokinin. *Biotechnology*, 1995; 13:250-4.
- Medford JI, Horgan R, El-Sawi Z, Klee H. Alterations of endogenous cytokinins in transgenic plants using a chimeric isopentenyl transferase gene. *Plant Cell*, 1989; 1:403-13.
- Miller CO, Skoog F, Von Saltza MH, Strong FM. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J Am Chem Soc*, 1955; 77:1392.
- Mok DW, Martin RC, Shan X, Mok MC. Genes encoding zeatin O-glycosyltransferases. *Plant Growth Regulation*, 2000; 32:285-7.
- Mok DWS, Mok MC. Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001; 52:89-118.
- Peres LEP, Mercier H, Kerbauy GB, Zaffari GR. Níveis endógenos de AIA, citocininas e ABA em uma orquídea acaule e uma bromélia sem raiz, determinado por HPLC e ELISA. *Rev Brasil de Fisiol Vegetal*, 1997; 9:169-76.
- Riou-Khamlichi C, Huntley R, Jacquard A, Murray JAH. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin. *Science*, 1999; 283:1541-4.
- Roitsch T, Ehneb R. Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regulation*, 2000; 32:359-67.
- Rupp H-M, Frank M, Werner T, et al. Increased steady state mRNA levels of the STM and KNAT1 homeobox genes in cytokinin overproducing *Arabidopsis thaliana* indicate a role for cytokinins in the shoot apical meristem. *Plant J*, 1999; 18:557-63.
- Skoog F, Strog FM, Miller FM. Cytokinins. *Science*, 1965; 148:532-3.
- _____, Miller CO. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol*, 1957; 11:118-231.
- Suzuki RM, Kerbauy GB, Zaffari GR. Endogenous hormonal levels and growth of dark-incubated shoots of *Catsetum fimbriatum*. *J Plant Physiol*, 2004; 161:929-35.
- Takei K, Sakakibara H, Sygyiyama T. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferase, a cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 2001a; 276:26405-10.
- _____, Sakakibara H, Taniguchi M, Sygyiyama T. Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulators. *Plant Cell Physiol*, 2001b; 42:85-93.
- _____, Veda N, Aoki K, et al. AtIPT3 is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2004; 5:1053-62.
- Thomas JC, Katterman FR. Cytokinin activity induced by thidiazuron. *Plant Physiol*, 1986; 81:681-3.
- Torres AC, Caldas LS, Buso JA. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas (vols 1 e 2). Brasília, CBAB/EMBRAPA, 1998/9, 864p.
- Werner T, Motyka V, Strnad M, Schmülling T. Regulation of plant growth by cytokinin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98:10487-92.
- White PR. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. *Plant Physiol*, 1934; 9:585-600.
- Zhang K, Letham DS, John PCL. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34^{cdc2}-like H1 histone kinase. *Planta*, 1996; 200:2-12.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Binns AN. Cytokinin accumulation and action: biochemical, genetic and molecular approaches. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1994; 45:173-96.
- Brzobohaty B, Moore I, Palme K. Cytokinin metabolism: implications for regulation of plant growth and development. *Plant Mol Biol*, 1994; 26:1483-97.
- Coenen C, Lomax TL. Auxin-cytokinin interactions in higher plants: old problems and new tools. *Trends Plant Sci*, 1997; 2:351-6.
- Haberer G, Kieber JJ. Cytokinins. New insights into a classic phytohormone. *Plant Physiol*, 2002; 128:354-62.
- Hare PD, Van Staden J. Cytokinin oxidase: biochemical features and physiological significance. *Physiol Plant*, 1994; 91:128-36.
- McGaw B, Burch LS. Cytokinin biosynthesis and metabolism. In: Davies PJ (Ed). *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht, Kluwer Acad Publi, 1995, p. 98-117.

Giberelinas

Miguel Pedro Guerra e Maria Aurineide Rodrigues

INTRODUÇÃO

As giberelinas constituem uma classe de hormônios capaz de modular o desenvolvimento durante todo o ciclo de vida da planta. Apesar da importância indiscutível das giberelinas no desenvolvimento das plantas superiores, de maneira curiosa esse grupo de substâncias foi descoberto por meio de pesquisas com o fungo *Gibberella fujikuroi*, demonstrando que as giberelinas não ocorrem exclusivamente em plantas. A denominação generalizada “giberelina”, na realidade, se refere a um grupo numeroso de 126 substâncias já identificadas em plantas, fungos e/ou bactérias, as quais possuem em comum a estrutura química básica. Dentre essa diversidade de formas distintas de giberelinas, somente um pequeno número delas são bioativas.

A bioatividade das giberelinas é dependente de sua estrutura química e é definida com base em sua biossíntese, metabolismo e/ou controle de inativação. Informações recentes obtidas com a utilização de plantas mutantes para diferentes passos da biossíntese ou transdução de sinais de giberelinas têm resultado em contribuições substanciais para uma melhor compreensão sobre a importância, o metabolismo e os mecanismos de ação dessa classe de hormônios no crescimento e desenvolvimento das plantas.

O primeiro efeito detectado das giberelinas nas plantas foi o estímulo do alongamento caulinar. Posteriormente, elas vêm se revelando importantes participantes também em diversos processos essenciais ligados ao desenvolvimento, como germinação, diferenciação foliar, controle do meristema apical caulinar, transição da fase juvenil para madura, determinação sexual, iniciação e desenvolvimento floral, iniciação e desenvolvimento de frutos, entre outros. O modo pelo qual as giberelinas influenciam cada um desses eventos será abordado adiante com maior detalhe.

Frente à influência notável desse hormônio sobre os eventos de desenvolvimento e crescimento das plantas, não surpreende o

fato de as giberelinas representarem um foco de grande interesse na pesquisa fundamental, com reflexos potenciais nada desprezíveis na área comercial e agrônômica. Algumas das aplicações das giberelinas nesse campo serão apresentadas no final do capítulo.

HISTÓRICO E OCORRÊNCIA

Assim como as auxinas e as citocininas, as giberelinas representam uma das principais classes de hormônios vegetais; no entanto, a sua descoberta não se deu em plantas, mas em fungos.

A origem da pesquisa com giberelinas teve início na década de 1920, quando agricultores japoneses relataram a existência de uma doença que ocasionava o crescimento anormal em plantas de arroz (*Oryza sativa*), acarretando prejuízos à produção de sementes. Os sintomas desta doença, chamada de *bakanae* (“doença da planta-boba”, em japonês), eram caracterizados pelo desenvolvimento de plantas alongadas, com folhas esguias e coloração amarela pálida (devido à inibição da produção de clorofila) e raízes atrofiadas. Nessa época, fitopatologistas japoneses detectaram que esse crescimento anormal era provocado pela presença do fungo infectante *Gibberella fujikuroi*, o qual excretava um composto que causava a doença *bakanae*. Durante a década de 1930, os pesquisadores japoneses isolaram a substância produzida pelo fungo, denominando-a de “giberelina”. Em seguida, ainda no Japão, foram obtidos cristais impuros de outros dois componentes com atuação no crescimento vegetal a partir de *G. fujikuroi*, os quais foram denominados giberelina A e giberelina B. No entanto, devido à impureza das amostras, esses pesquisadores não lograram sucesso na determinação da estrutura química da forma ativa da giberelina.

Somente na década de 1950, após o término da Segunda Guerra Mundial, a estrutura química da giberelina na forma

ativa foi elucidada, de maneira concomitante, por dois grupos de pesquisa: um na Inglaterra (Imperial Chemical Industries — ICI) e outro nos EUA (Departamento de Agricultura — USDA). Amostras foram trocadas entre esses dois grupos e as duas substâncias foram identificadas como sendo uma giberelina ativa com propriedades químicas e físicas idênticas, sendo aceito por ambos os grupos o nome “ácido giberélico” para designá-la. Nessa mesma época, na Universidade de Tóquio, foram isoladas, a partir da giberelina A, três novas giberelinas: A₁, A₂ e A₃, sendo que a giberelina A₃ se mostrou equivalente ao ácido giberélico.

As primeiras evidências na literatura de que as giberelinas eram substâncias de ocorrência natural em plantas superiores só apareceram em meados da década de 1950, sendo que ao longo dos anos 1960, quando o número de giberelinas isoladas de fungos e/ou vegetais superiores aumentou rapidamente, verificou-se o quão numeroso era esse grupo de substâncias. Dessa forma, foi estabelecido um acordo de que todas as giberelinas deveriam ser designadas por números, os quais deveriam seguir a ordem de descoberta e identificação, de maneira independente da origem (por exemplo, seguindo a classificação: AG₁, AG₂, AG₃, ..., AG_x).

Ao longo dos últimos 20 anos, com a utilização de técnicas analíticas cada vez mais aprimoradas, um número substancial de giberelinas vem sendo identificado. No momento presente, já são conhecidas 126 formas diferentes. Apesar do grande número, poucas giberelinas são tidas como ativas, destacando-se o ácido giberélico (AG₃) como o principal componente bioativo na maioria das plantas. Grande parte das formas já identificadas (cerca de 80%) ocorre exclusivamente em plantas superiores, cerca de 10% são encontradas somente em fungos e outros 10% são encontrados em ambos os organismos. Algumas poucas formas de giberelinas foram também identificadas em bactérias.

A maioria das plantas possui 10 ou mais giberelinas diferentes, sendo que ocorrem freqüentemente variações nos tipos predominantes dessas substâncias entre as espécies vegetais. Em tecidos de origem fúngica, material onde as giberelinas foram primeiramente identificadas, a produção dessa classe hormonal é muito mais elevada do que os teores médios encontrados nos tecidos vegetais. No entanto, em fungos as giberelinas são produtos do metabolismo secundário, sendo que sua função no metabolismo desses organismos, se existente, ainda não é conhecida.

Neste capítulo, adotou-se a sigla “AG” como designativa de giberelinas, em referência ao “Ácido Giberélico” em língua portuguesa.

BIOSSÍNTESE

O entendimento acerca da regulação da homeostase das giberelinas (AG) no crescimento e no desenvolvimento vegetal vem sendo aprofundado nos últimos anos graças aos resultados obtidos com pesquisas tanto das vias de biossíntese quanto da sinalização dessa classe hormonal. Um conhecimento razoável sobre a via biossintética de giberelinas foi primeiramente obtido com estudos utilizando-se o fungo *Gibberella fujikuroi*.

A via biossintética de AG nas plantas, por sua vez, vem sendo elucidada pela combinação de abordagens bioquímicas e genéticas. Os genes que codificam algumas enzimas-chave da biossíntese de giberelinas já foram identificados em várias espécies, auxiliando, dessa forma, na ampliação do conhecimento sobre os fatores que regulam o metabolismo dessa classe hormonal. Esses avanços têm contribuído, por exemplo, para o conhecimento de que a biossíntese de giberelinas é fortemente regulada por alguns fatores ambientais, tais como fotoperíodo e temperatura, os quais podem alterar os teores de giberelinas ativas por afetarem passos específicos da rota biossintética.

A despeito de as vias de biossíntese de AG serem consideravelmente complexas, serão abordadas a seguir algumas das características mais relevantes desse evento em plantas, incluindo os principais locais de produção, as vias biossintéticas com seus componentes e precursores, bem como algumas substâncias capazes de inibir a biossíntese das giberelinas.

Principais locais de biossíntese

Nas plantas superiores, os principais sítios de biossíntese de giberelinas são as sementes, frutos em desenvolvimento e tecidos vegetativos em rápido crescimento. A localização das moléculas de RNAm dos genes de biossíntese de AG indica um padrão complexo que varia de acordo com o estágio de desenvolvimento em muitas espécies.

A distribuição de giberelinas nas raízes parece ocorrer de maneira não uniforme, sendo as regiões jovens as mais efetivas na sua biossíntese. Assim, por exemplo, em ápices radiculares e raízes laterais de ervilha (*Pisum sativum*) os teores de AG são relativamente mais elevados do que nas partes mais maduras. Constatou-se também que a expressão dos genes promotores da biossíntese de giberelinas ocorre em maior grau nos ápices radiculares e caulinares em relação aos demais tecidos de plântulas.

As sementes em desenvolvimento são fontes ricas de enzimas biossintéticas de AG, de transcritos correspondentes a essas enzimas e de giberelinas propriamente ditas. Foram essas características presentes nas sementes imaturas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) que possibilitaram a utilização desse material para o isolamento da primeira giberelina em plantas superiores. Posteriormente, as sementes de abóbora (*Curcubita maxima*) em desenvolvimento foram introduzidas como importante modelo de estudos para desvendar muitos dos passos hoje conhecidos da biossíntese de giberelinas em plantas superiores, já que essas sementes também oferecem uma fonte conveniente de purificação de enzimas biossintéticas, assim como de clonagem de seus respectivos genes.

Alguns sinais ambientais como luz e temperatura podem alterar a localização da biossíntese de giberelinas em sementes, sendo que a produção dessa classe hormonal, em geral, ocorre em duas fases principais nessas estruturas. A primeira fase ocorre imediatamente após a antese e parece estar relacionada com o crescimento do fruto. A segunda ocorre quando as sementes em maturação estão aumentando de tamanho e resulta em um grande acúmulo de giberelinas no seu interior. No entanto, as concentrações de AG não permanecem elevadas até o fim do

desenvolvimento das sementes, sendo que os teores endógenos de giberelinas tendem a declinar no final da sua maturação.

A maior parte dos estudos de biossíntese de giberelinas emprega como estratégia experimental os chamados sistemas de células livres (*cell-free system*) obtidos de partes das sementes, tais como do endosperma e de cotilédones. Esse tipo de sistema é muito utilizado como uma ferramenta *in vitro* para estudos de reações biológicas que ocorrem dentro das células, com menor interferência dos componentes celulares vizinhos. O emprego dos sistemas de células livres, portanto, reduz os problemas associados com o acesso ao substrato no tecido e, além disso, permite avançar nos estudos das propriedades bioquímicas das enzimas associadas. Esse trabalho árduo envolvido na elucidação dos intermediários biossintéticos, usualmente, é realizado com a utilização de isótopos marcados, os quais são aplicados a organismos intactos ou aos extratos de células livres, e, finalmente, os produtos das reações são identificados pela técnica denominada de cromatografia gasosa ligada a espectrometria de massa (CG-MS).

Estrutura química e precursores

Diferentemente dos outros hormônios vegetais, as giberelinas são definidas mais por sua estrutura química do que por sua atividade biológica, sendo a característica comum entre as diferentes formas

de AG o fato de que todas são derivadas do anel *ent*-caureno (Fig. 11.1). Os elementos pertencentes a esse grupo de hormônios são classificados como diterpenóides tetracíclicos constituídos de quatro unidades de isoprenóides, com o arranjo estrutural *ent*-giberelano (Fig. 11.1). As giberelinas podem ser divididas em dois grupos em relação à sua estrutura química: AG-C₂₀ (giberelinas que contêm 20 átomos de carbono) e AG-C₁₉ (giberelinas que perderam o C₂₀, ou seja, o carbono na posição 20) e possuem um anel γ -lactona (Fig. 11.1).

Os primeiros passos da biossíntese para as giberelinas contam com a formação da unidade biológica isopreno, o isopentenildifosfato (IPP), a qual é adicionada ao dimetilalil difosfato (DMAPP) sucessivamente para formar os intermediários geranyl difosfato (C₁₀), o farnesil difosfato (C₁₅) e o geranylgeranyl difosfato (C₂₀) pela via dos terpenóides no interior dos plastídeos (Fig. 11.2).

Até pouco tempo atrás, acreditava-se que o ácido mevalônico era o único precursor imediato do IPP na biossíntese de todos os terpenóides. Contudo, foi demonstrada, recentemente, a existência de duas rotas de biossíntese de terpenóides: uma dependente e outra independente do ácido mevalônico. A primeira ocorre no citossol e a segunda nos cloroplastos (Fig. 11.2). A rota biossintética de terpenóides que resulta na síntese do precursor IPP nas plantas parece ocorrer, preferencialmente, pela via independente do ácido mevalônico, a qual se dá a partir da reação

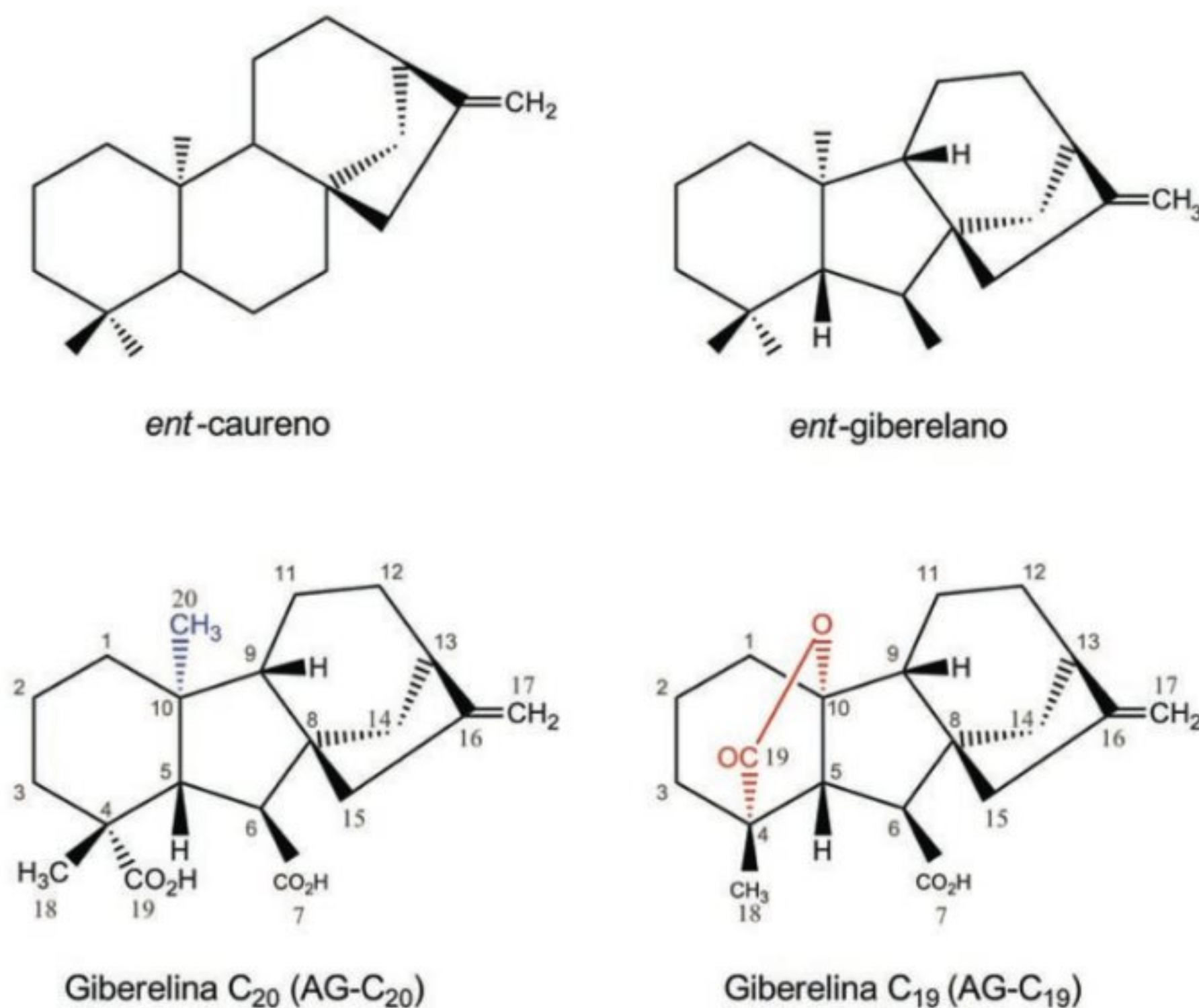


FIGURA 11.1

Arranjo estrutural do *ent*-caureno, do *ent*-giberelano, de uma giberelina do tipo AG-C₂₀ (giberelinas que contêm 20 átomos de carbono) e de uma giberelina do tipo AG-C₁₉ (giberelinas que perderam o carbono na posição 20 [C₂₀ indicado em azul] e possuem um anel γ -lactona [apresentado em vermelho]).

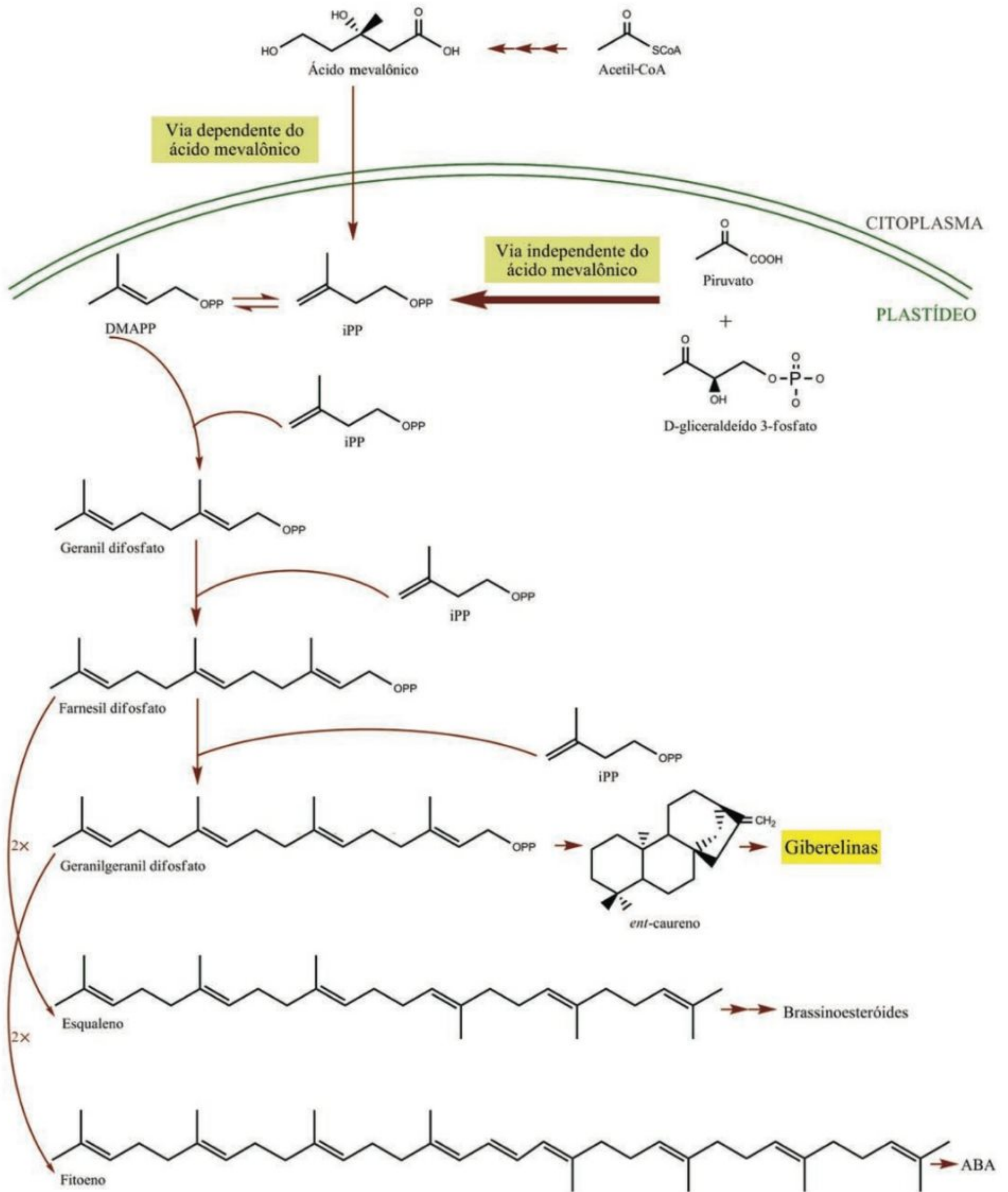


FIGURA 11.2

Via biossintética dos terpenóides, mostrando a origem de IPP (isopentenildifosfato) da via dependente e independente do ácido mevalônico (flecha mais grossa indica via preferencial), bem como a origem em comum dos precursores das vias biossintéticas de giberelinas, ácido abscísico e brassinoesteróides. DMAPP corresponde a dimetilalil difosfato.

entre gliceraldeído-3-fosfato e piruvato. No entanto, em alguns casos, como no endosperma de sementes de abóbora, o IPP pode ser formado também no citossol a partir do ácido mevalônico, derivado de acetil-CoA.

Após a formação da molécula geranylgeranyl difosfato (GGDP) a rota metabólica pode ser direcionada especificamente para biossíntese das giberelinas, sendo o GGDP utilizado como precursor comum dos diterpenóides (por exemplo, giberelinas e cadeia fitol da clorofila) e dos tetraterpenos, como no caso dos carotenóides (ver Cap. 12, Ácido Abscísico).

Etapas da via biossintética

Na maioria das espécies vegetais a via biossintética de giberelinas é dividida em três partes, as quais são separadas com base na compartimentação subcelular dos componentes envolvidos, tais como substratos e enzimas.

Na primeira etapa, que ocorre preferencialmente nos plastídeos, há o envolvimento da ciclização de GGDP a *ent*-copalil difosfato, que é convertido a *ent*-caureno, e cujas reações são catalisadas pelas enzimas solúveis sintase do *ent*-copalil difosfato (CPS) e sintase do *ent*-caureno (Fig. 11.3). Estudos bioquímicos

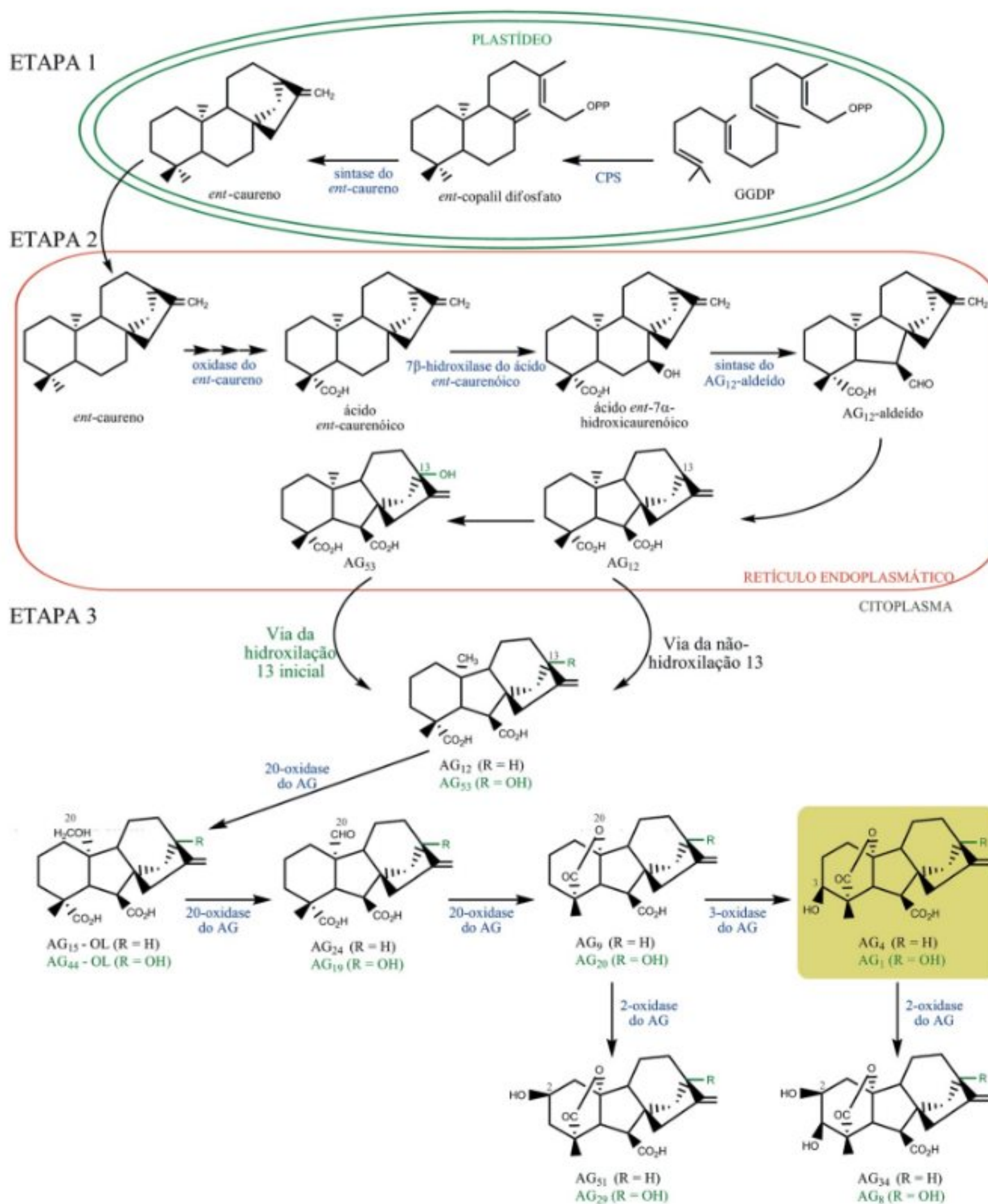


FIGURA 11.3

Principais passos da via biossintética de giberelinas nas plantas superiores, mostrando a separação espacial das três etapas que ocorrem nos plastídeos, retículo endoplasmático e citoplasma. As enzimas que catalisam as conversões ao longo da biossíntese de AG estão indicadas em azul (CPS simboliza a sintase do *ent*-copalil difosfato) e as giberelinas bioativas estão ressaltadas no interior do quadro amarelo. A via da hidroxilação 13 inicial está apresentada em verde e a via da não-hidroxilação 13, em preto. Também é mostrado o papel metabólico da enzima 2-oxidase do AG no controle dos teores de giberelinas bioativas e de seus precursores imediatos. (Adaptada de Hedden e Phillips, 2000.)

revelaram que essas duas enzimas estão presentes nos proplastídeos dos meristemas apicais caulinares, mas não nos cloroplastos maduros das folhas.

A identificação e as análises dos mutantes *gal-3* em *Arabidopsis thaliana* (com deficiência no gene *GAI*, codificante para CPS) e *ls* em ervilha (com deficiência na atividade de CPS) revelaram que a enzima CPS parece ser um importante ponto de controle no fluxo de metabólitos dentro da via biossintética de giberelinas. Um exemplo dessa importância é o fato de que a expressão de *LS* participa no controle do tamanho caulinar de plantas de ervilha, por meio da regulação dos teores endógenos de giberelinas bioativas.

O segundo estágio da via biossintética de AG ocorre no retículo endoplasmático, onde o *ent*-caureno é oxidado ao precursor geral de giberelinas, o AG₁₂-aldeído. Esse processo conta com a participação das enzimas mono-oxigenases P-450, denominadas, na ordem de atuação na via biossintética, de oxidase do *ent*-caureno, 7β-hidroxiase do ácido *ent*-caurenóico e sintase do AG₁₂-aldeído (Fig. 11.3).

O mutante *ga3* de *Arabidopsis* possui deficiência na atividade da enzima oxidase do *ent*-caureno (codificada pelo gene *GA3*), fazendo com que as plantas apresentem fenótipo anão. Em plantas de ervilha, os mutantes homocigotos denominados de *nana* (onde *Na* é o alelo selvagem) apresentam o fenótipo superanão devido ao bloqueio total da síntese de giberelinas nos passos catalisados pela oxidase do *ent*-caureno.

A terceira e última etapa da via de biossintese de giberelinas ocorre no citossol e é catalisada por enzimas multifuncionais do tipo dioxigenases dependentes de 2-oxoglutarato, também conhecidas simplesmente por oxidases do AG (ou oxidases de giberelinas). Nessa fase ocorre a conversão de AG₁₂-aldeído em diferentes tipos de giberelinas (Fig. 11.3), sendo que o metabolismo subsequente pode variar em termos de posições e seqüências de eventos oxidativos entre diferentes espécies vegetais e até mesmo entre órgãos de uma mesma planta.

Dessa forma, a conversão do AG₁₂-aldeído aos vários tipos de giberelinas pode seguir por duas vias diferentes. A primeira delas envolve hidroxilação inicial do C₁₃ da molécula de AG₁₂-aldeído (conhecida como “via da hidroxilação 13 inicial”), a qual origina, por exemplo, AG₂₀ e AG₁. Na segunda via o AG₁₂-aldeído é inicialmente convertido a AG₁₂ sem ocorrer a hidroxilação da molécula no C₁₃ (“via da não-hidroxilação 13”), originando, subsequente, AG₉ e AG₄, entre outras giberelinas menos freqüentes nas plantas (Fig. 11.3). A via predominante nos tecidos vegetais pode variar; no entanto, na maioria das espécies já estudadas predomina a via da hidroxilação 13 inicial. Por outro lado, em *Arabidopsis*, a planta considerada como modelo de estudo entre os vegetais, predomina a via da não-hidroxilação 13. Em algumas espécies, como *Phaseolus coccineus*, podem ser observadas ambas as vias operando.

O controle preciso exercido sobre essa etapa biossintética é essencial para o ajuste fino dos teores e tipos de giberelinas durante todos os estágios do desenvolvimento vegetal. Uma parcela considerável desse controle é exercida por enzimas-chaves denominadas de 20-oxidase do AG e 3-oxidase do AG,

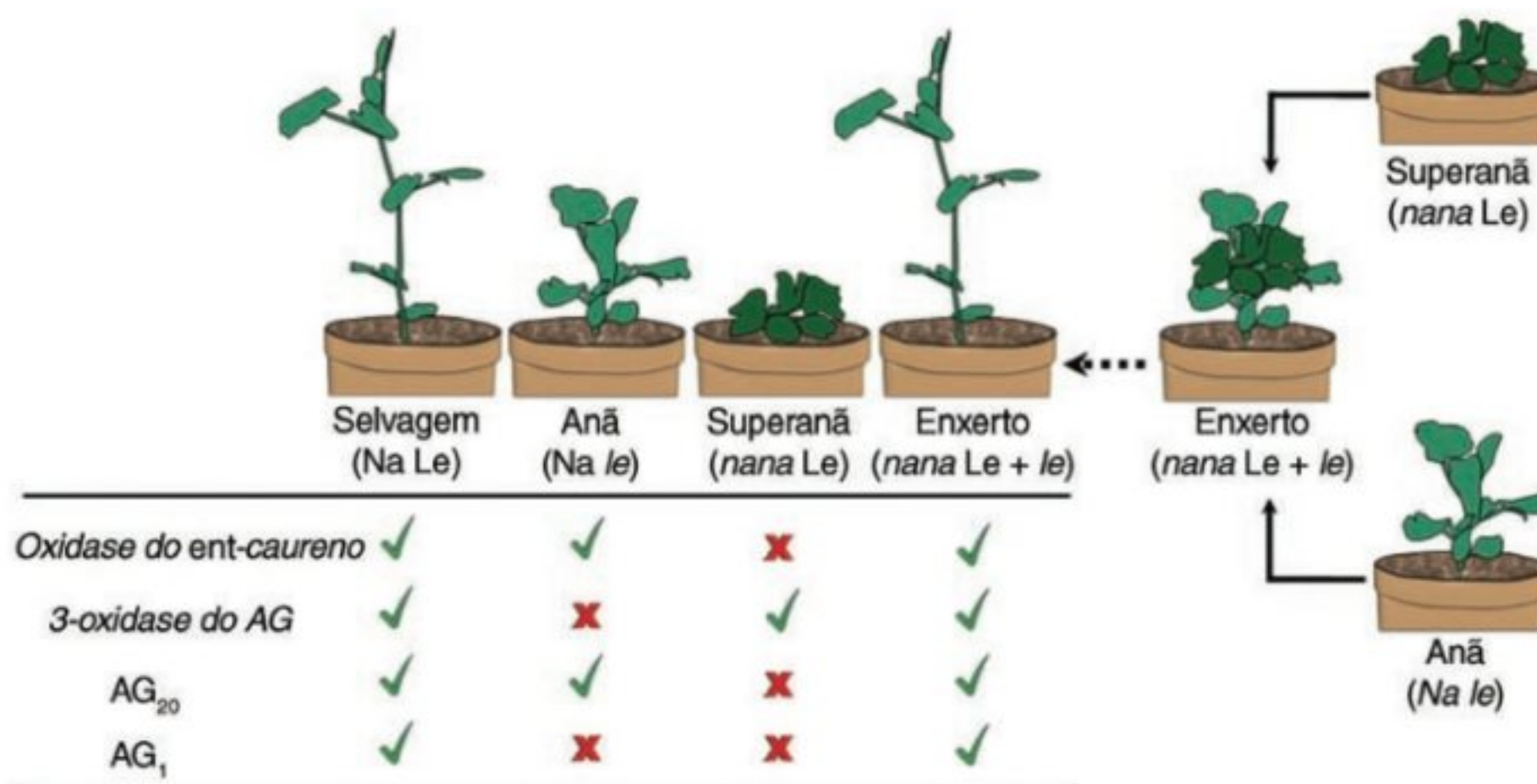
as quais participam da última etapa da biossintese de giberelinas tanto na via da hidroxilação 13 inicial quanto na via da não-hidroxilação 13 (Fig. 11.3). Uma das formas de controle nesse ponto da via biossintética é exercida pela regulação negativa da transcrição dos genes que codificam essas enzimas pelo aumento dos teores de giberelinas nas células.

A enzima 3-oxidase do AG (também conhecida por 3β-hidroxiase) catalisa, especificamente, as reações de 3β-hidroxilação de AG₂₀ ou AG₉ (dependendo da via), sintetizando as giberelinas bioativas AG₁ ou AG₄, respectivamente (Fig. 11.3). Esse passo biossintético crucial é controlado em nível de transcrição do gene para 3-oxidase do AG por fatores ligados ao desenvolvimento vegetal, luz e mecanismos sensíveis à auxina. A importância do controle preciso dessa fase se dá pelo fato de que a presença de um grupo 3β-hidroxila na molécula de giberelina é requisito para a bioatividade de AG, como é observado, por exemplo, em AG₁ e AG₄ (Fig. 11.3).

Mutantes de ervilha e milho com deficiência na atividade da 3-oxidase do AG apresentam uma redução drástica na altura das plantas, resultando em plantas anãs. Em plantas de ervilha o gene responsável pela expressão da 3-oxidase do AG é chamado de *Le* e os mutantes, de *le*. Os mutantes *le*, por possuírem a atividade dessa enzima defectiva, não são capazes de converter AG₂₀ em AG₁. No entanto, se plantas superanãs *nana* forem enxertadas nos mutantes anões *le*, pode-se verificar a retomada de crescimento caulinar desses últimos, mesmo se tratando de dois mutantes com teores reduzidos de giberelinas devido a deficiências na sua biossintese. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que enzimas 3-oxidase do AG não-defectivas provenientes do mutante *nana* possibilitaram a conversão do AG₂₀ presente no mutante *le* em AG₁ bioativa (Fig. 11.4). Informações adicionais sobre a importância do gene *Le* nos contextos histórico e fisiológico serão abordadas no item Crescimento caulinar e alongamento celular.

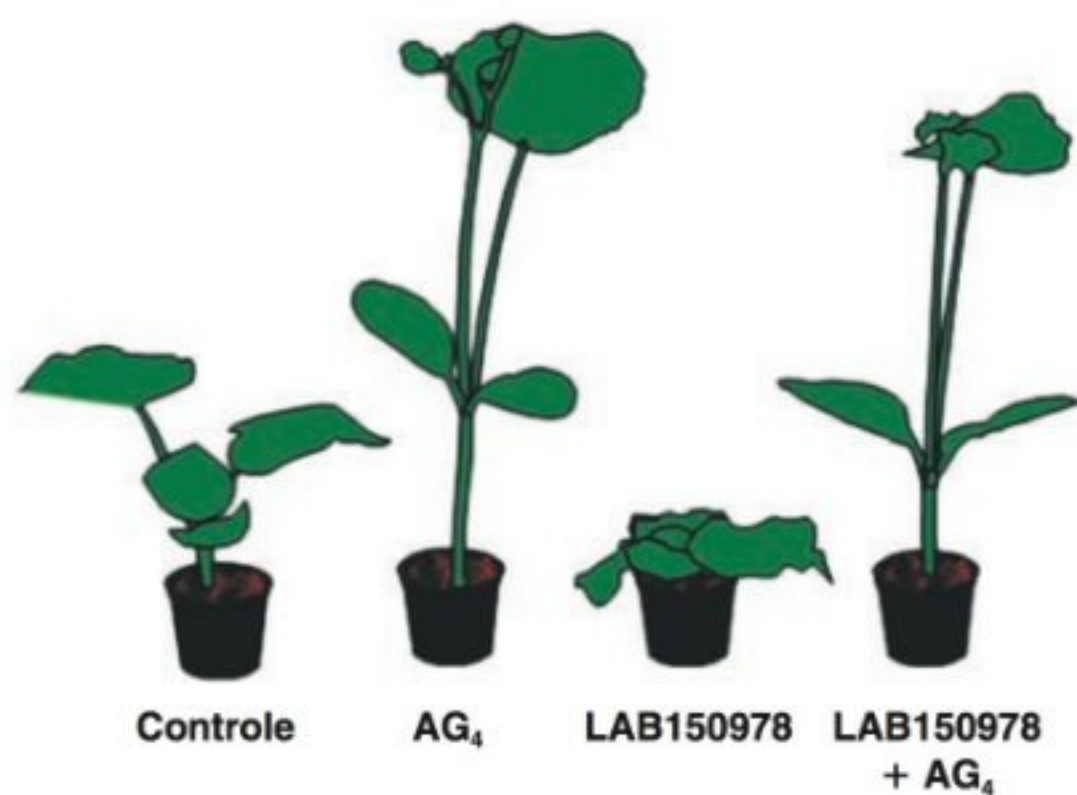
Substâncias inibitórias da biossintese

São conhecidos vários inibidores da biossintese de giberelinas, os quais atuam em diferentes estágios da rota biossintética. Alguns inibidores, como o AMO-1618 e o cycocel, bloqueiam a síntese de *ent*-caureno logo na primeira etapa da biossintese de AG. Em contrapartida, os inibidores ancimidol, tetraciclase, paclobutrazol e uniconazole bloqueiam a rota em um estágio posterior, associado à oxidação do *ent*-caureno, impedindo o funcionamento adequado das mono-oxigenases P-450 na segunda etapa biossintética de AG. O aspecto morfológico de plantas submetidas ao tratamento com tais substâncias freqüentemente se assemelha ao observado em mutantes com deficiência em genes que codificam enzimas biossintéticas de giberelinas, ou ainda aqueles que possuem a própria atividade enzimática defectiva. Por exemplo, a aplicação da substância LAB150978 em plântulas de abóbora causa a inibição da enzima oxidase do *ent*-caureno e reduz drasticamente o crescimento caulinar (Fig. 11.5).

**FIGURA 11.4**

Experimento utilizando mutantes de ervilha com deficiências em passos específicos da via biossintética de giberelinas: mutante *nana* (deficiente nos passos catalisados pela oxidase do ent-caureno) e mutante *le* (deficiente na atividade da 3-oxidase do AG). Verificar que os mutantes anões *le* retomaram o crescimento caulinar após a enxertia de plantas superanãs *nana*, possuidoras da enzima 3-oxidase do AG com atividade normal. Essa enzima seria responsável pela conversão de AG₂₀ (não ativo) em AG₁ (bioativo).

Nos últimos anos foi desenvolvida uma série de compostos baseados no acilciclo-hexadione, cuja ação ocorre nos estágios finais da rota biossintética, nos quais as reações são catabolizadas por dioxigenases dependentes de 2-oxoglutarato. BX-112, ou seu ácido livre pró-hexadione, e LAB198999 são os compostos mais usados e, em baixas concentrações, agem como inibidores competitivos do 2-oxoglutarato.

**FIGURA 11.5**

Experimento com a aplicação do inibidor de biossintese de AG LAB150978 de maneira isolada ou combinada ao AG₄ (uma giberelina bioativa) em plântulas de abóbora. LAB150978 causa a inibição da enzima oxidase do ent-caureno e reduz drasticamente o crescimento caulinar, sendo que seu efeito pode ser parcialmente revertido pela aplicação de uma giberelina bioativa. Notar que nessa fase da vida das plântulas de abóbora a aplicação de AG₄ de maneira isolada promoveu um acentuado crescimento caulinar em relação ao controle.

CONJUGAÇÃO E DEGRADAÇÃO

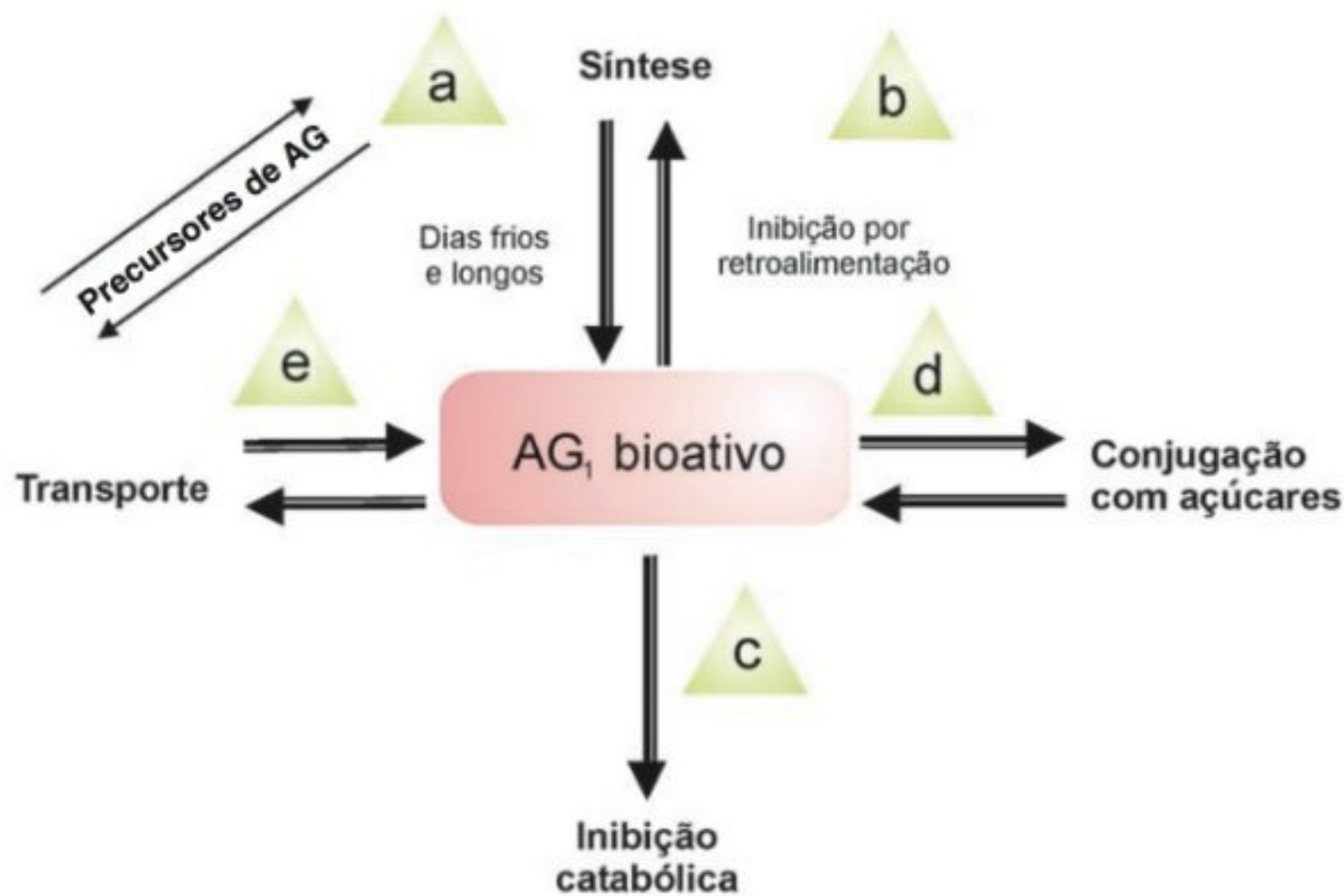
Juntamente com as formas livres de giberelinas (bioativas ou inativas), as plantas possuem muitas formas conjugadas de AG. Uma das principais formas de conjugação, principalmente em sementes, são as giberelinas glicosiladas, formadas por ligação covalente entre giberelina e um monossacarídeo. O principal açúcar é a glicose, que se liga à giberelina por meio do grupo carboxila, formando giberelina glicosilada, ou via grupo hidroxila, formando giberelina glicosil éster. Quando as giberelinas são exogenamente aplicadas às plantas, uma parte delas se torna glicosilada, o que pode representar outra forma de inativação. Por outro lado, em alguns casos, quando glicosídeos são aplicados, são detectadas giberelinas livres. Assim, os glicosídeos também podem ser uma forma de armazenamento de giberelinas.

Ao final do ciclo, as giberelinas bioativas são desativadas por 2β-hidroxilação pela enzima 2-oxidase do AG, a qual catalisa o catabolismo e a inativação dos AG bioativos e seus precursores. Assim, AG₁ é convertido a AG₈, e AG₄ é convertido a AG₃₄ (Fig. 11.3). O catabolismo de giberelinas pela enzima 2-oxidase do AG é regulado positivamente em nível de transcrição dos genes que codificam essa enzima pela elevação da sinalização de giberelinas ou tratamento com AG.

Um resumo explicativo dos processos que contribuem para o estado de equilíbrio nos níveis de giberelinas bioativas é apresentado na Fig. 11.6.

TRANSPORTE

Pesquisas recentes propõem que as giberelinas sejam produzidas em locais próximos, ou no próprio local de sua ação. No entanto, outro grupo de evidências sugere a possibilidade de mecanismos

**FIGURA 11.6**

Processos associados ao estado de equilíbrio de giberelinas ativas. A síntese de giberelinas (formas livres), como o AG_1 , é promovida por fatores ambientais, como o frio e os dias longos (a). De forma inversa, as giberelinas podem inibir sua própria biossíntese via inibição por retroalimentação (b). A redução nos níveis de giberelinas bioativas pode ocorrer pelo catabolismo (c) ou por conjugação com açúcares (d). Por outro lado, giberelinas bioativas podem ser geradas pela liberação da forma conjugada. Finalmente, o transporte de giberelinas (e) ou de seus precursores, a partir de/ou para determinado tecido, também pode afetar o estado de equilíbrio de uma giberelina bioativa. (Adaptada de Taiz e Zeiger, 1998.)

de transporte de giberelinas existirem dentro de diferentes tecidos vegetais.

Uma evidência forte em favor da existência do transporte de giberelinas entre tecidos foi dada a partir de estudos do perfil de expressão temporal e espacial dos genes de biossíntese de AG durante a germinação de sementes de *Arabidopsis*. Foi verificado que diferentes fases da biossíntese de giberelinas ocorriam em locais distintos dentro do embrião. A localização dos participantes iniciais da via biossintética de AG, deduzida pela presença do RNAm do gene *CPS1* (codifica a enzima CPS — ver Fig. 11.3), predominava no tecido provascular. Em contrapartida, alguns participantes da via biossintética tardia, incluindo giberelinas bioativas e moléculas de RNAm da 3-oxidase do AG (catalisa a síntese de AG_1 e AG_4 — ver Fig. 11.3) acumulavam-se no córtex e endoderme da raiz. Esses dados representaram fortes indícios de que efetivamente ocorra transporte intercelular dentro do embrião de um intermediário da via biossintética de AG (provavelmente *ent-caureno*) para produzir giberelinas bioativas.

Estudos realizados com plântulas de ervilha também corroboraram a existência de transporte de giberelinas entre os tecidos vegetais. Foi verificada a presença de giberelinas preferencialmente em entrenós imaturos, gemas e folhas jovens. Com base no fato de que a primeira etapa da biossíntese de AG (Fig. 11.3) não ocorre em cloroplastos maduros, deduz-se que a produção de giberelinas não seja observada nas células do mesófilo foliar. Adicionalmente, esse tecido apresenta capacidade de permitir as reações da última etapa biossintética de giberelinas. Essas diferenças sugerem que intermediários da biossíntese de AG possam ser transportados dos tecidos meristemáticos caulinares apicais para as folhas, onde poderiam ser convertidos em giberelinas ativas. Há sugestões de que o transporte de giberelinas a partir de folhas jovens não envolva tecidos vasculares, mas sim o córtex e a medula.

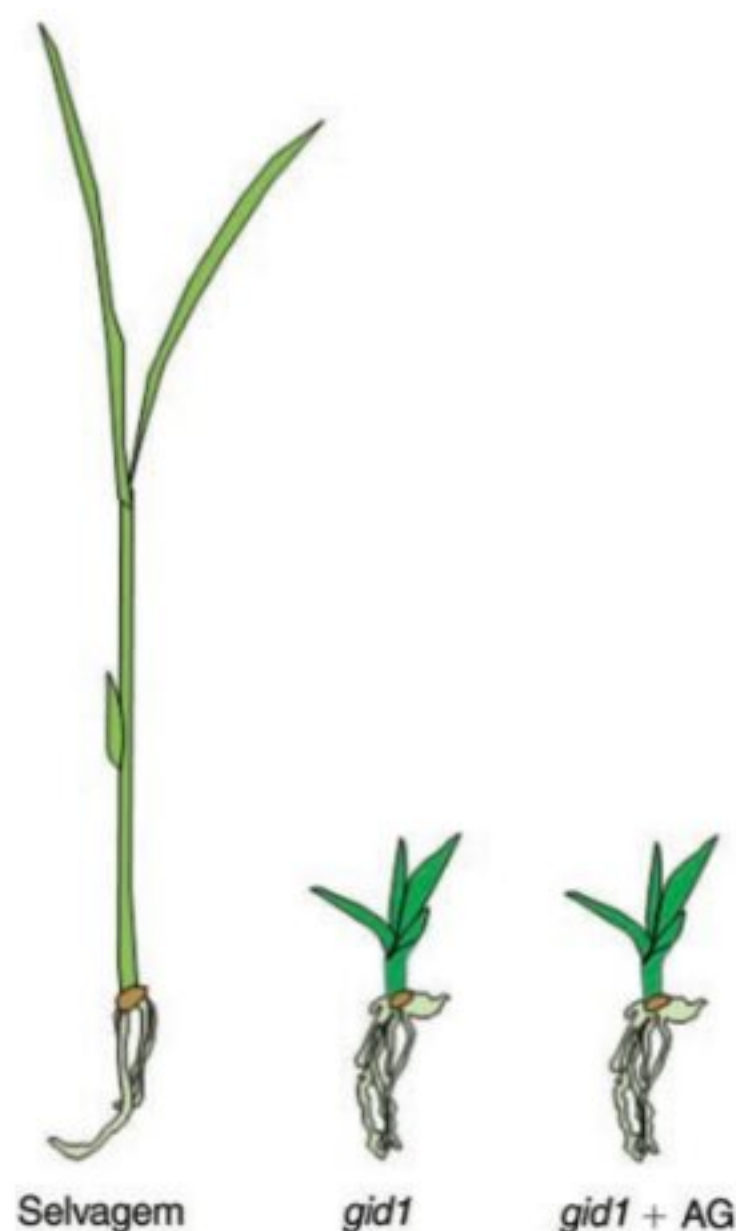
MECANISMOS E MODO DE AÇÃO

Além da importância da concentração endógena, uma questão essencial para a devida compreensão do papel de qualquer hormônio vegetal diz respeito ao *modo de ação* dessas substâncias, este intimamente ligado ao local de percepção desse sinal nas células. Em uma via de sinalização hormonal convencional, a ligação do hormônio ao seu receptor desencadeia uma cascata de substâncias intermediárias e mensageiros secundários que leva a uma determinada resposta celular (ver adiante). Apesar de estudos recentes apresentarem um número crescente de possíveis fatores que afetam as respostas às giberelinas, neste capítulo serão apresentados e abordados apenas alguns dos principais participantes envolvidos nessa sinalização.

Percepção do sinal

Recentemente, ou seja, em 2005, Ueguchi-Tanaka e colaboradores obtiveram sucesso na identificação do receptor de giberelinas em arroz nomeado de *GID1* (do inglês *GA INSENSITIVE DWARF1*), propiciando um avanço substancial no entendimento da cascata de sinalização desse hormônio. Essa descoberta veio fornecer as primeiras informações sobre os eventos moleculares relacionados com a percepção do sinal das giberelinas nos vegetais.

O gene *GID1* codifica uma proteína homóloga às lipases sensíveis a hormônios nos animais e localiza-se predominantemente no núcleo das células; no entanto, teores baixos de *GID1* são também detectáveis no citossol. Os mutantes *gid1* são completamente insensíveis às giberelinas (Fig. 11.7), frente ao que, embora ainda não comprovado, sugere-se que *GID1* seja o único receptor de AG em arroz. Mais recentemente ainda, em 2006, Nakajima e colaboradores isolaram em *Arabidopsis thaliana* três genes homólogos a *GID1* (denominados de *AtGID1a*, *AtGID1b*

**FIGURA 11.7**

Aspecto morfológico dos mutantes *gid1* em plântulas de arroz com intensa inibição do crescimento caulinar. Mutantes *gid1* possuem deficiência na percepção do sinal de AG pelo receptor *GID1*; dessa forma, eles se apresentam completamente insensíveis à aplicação de giberelina bioativa exógena. (Baseada em Ueguchi-Tanaka *et al.*, 2007.)

e *AtGID1c*), os quais codificam proteínas altamente similares àquelas do receptor do arroz.

De maneira distinta dos receptores previamente caracterizados para os fitormônios etileno (ver Cap. 13, Etileno), brassinosteróides (ver Cap. 14, Outros Reguladores) e citocininas (ver Cap. 10, Citocininas), o receptor de giberelinas apresenta um mecanismo de sinalização que se assemelha em alguns pontos ao modo de ação das auxinas (ver Cap. 9, Auxinas). Dessa forma, a sinalização de giberelinas opera por meio de um sistema de desrepressão da expressão de genes de respostas a AG, o qual é dependente da ligação da molécula de giberelina ao receptor *GID1* e é modulado por membros da família de proteínas nucleares denominadas de proteínas DELLA.

Proteínas DELLA e o mecanismo de repressão de respostas às giberelinas

As proteínas DELLA agem como reguladores de transcrição nuclear, atuando como repressores da sinalização de giberelinas. O mecanismo molecular pelo qual as proteínas DELLA reprimem as respostas de AG não está ainda totalmente esclarecido; no entanto, acredita-se que a inativação e a degradação de proteínas DELLA seja um evento-chave para desencadear a sinalização de giberelinas.

As proteínas DELLA, bem como seu papel na sinalização de AG, são altamente conservadas nas plantas. Um único gene para a proteína DELLA foi identificado nos genomas de arroz e cevada (denominado de *SLENDER RICE1* [*SLR1*] e *SLENDER1* [*SLN1*], respectivamente), o qual age na repressão de todas as respostas às giberelinas nessas duas espécies. De maneira surpreendente, 5 genes para proteína DELLA (*GA-INSENSITIVE* [*GAI*], *Repressor of ga1-3* [*RGA*], *RGA-like1* [*RGL1*], *RGA-like2* [*RGL2*] e *RGA-like3* [*RGL3*]) foram identificados no genoma de *Arabidopsis*, sendo os genes *RGA* e *GAI* os mais efetivos na repressão durante do crescimento vegetativo (por exemplo, no alongamento caulinar) e na indução floral. Via de regra, o gene *RGL2* atua durante a germinação, enquanto *RGA*, *RGL1* e *RGL2* atuam conjuntamente no desenvolvimento floral.

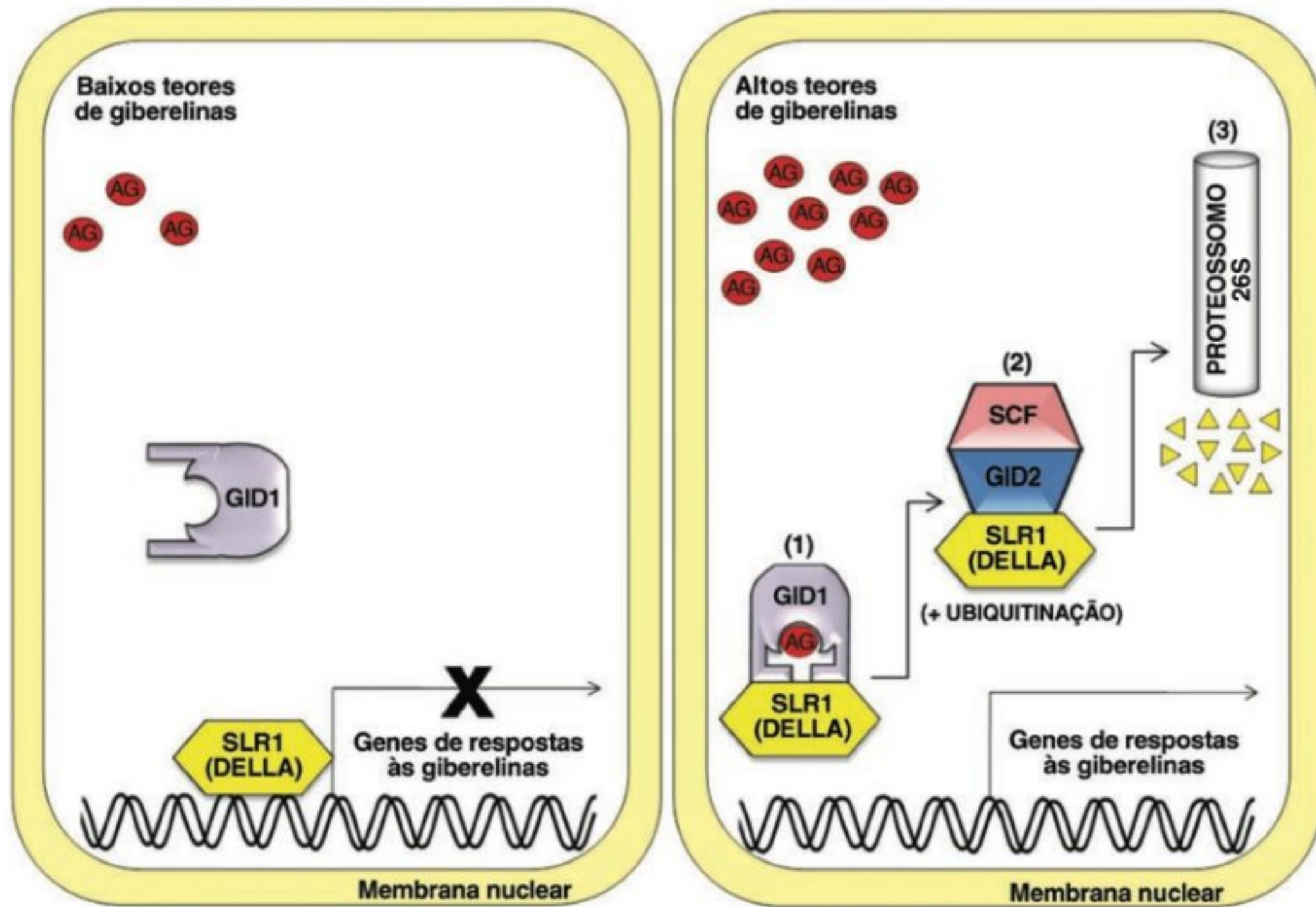
De acordo com o modelo geral de sinalização de giberelinas atualmente proposto, a ligação de AG ao receptor *GID1* leva à sua interação com a proteína DELLA. Essa interação, por sua vez, estimula a ligação da proteína DELLA a um complexo protéico denominado de *SCF^{GID2}*. Após esta última ligação, a proteína DELLA é destinada à ubiquitinação (processo que marca as proteínas para degradação), com a sua conseqüente degradação pelo proteossomo 26S. À medida que a degradação das proteínas DELLA ocorre, inicia-se a transcrição dos genes de respostas às giberelinas, os quais se encontravam sob a repressão exercida por essas proteínas (Fig. 11.8).

As proteínas DELLA parecem modular muitos aspectos de respostas à sinalização dada pela luz e hormônios, particularmente aquelas relacionadas à germinação; tanto que a perda de função de proteínas DELLA leva a respostas alteradas às giberelinas em muitas espécies vegetais. Assim, por exemplo, plantas mutantes *gai-1* de *Arabidopsis*, com a proteína DELLA defectiva, apresentam um fenótipo semelhante aos mutantes deficientes na biosíntese de giberelinas (plantas anãs, folhas com coloração verde-escura e floração tardia); no entanto, esses mutantes mostraram-se insensíveis à aplicação de AG (Fig. 11.9). A mutação *gai-1* está presente no domínio de regulação da proteína DELLA, ou seja, trata-se de uma modificação que anula a sensibilidade da proteína ao AG, impedindo dessa forma a ocorrência da desrepressão da transcrição de genes de respostas às giberelinas.

As vias de transdução do sinal de giberelinas também contam com uma série de intermediários e mensageiros secundários, como, por exemplo, o Ca^{2+} citossólico, fosforilases, proteínas G, cinases, fosfatases, entre outros. Essas substâncias participam de respostas temporárias e específicas, sejam elas de origem genômica (passando por regulação da transcrição gênica) ou não-genômica. Essas etapas da transdução do sinal de giberelinas serão apresentadas a seguir, utilizando-se como exemplo o modelo mais bem estudado até hoje sobre esse assunto: a camada de aleurona e a mobilização de reservas do endosperma de sementes de cereais induzidas à germinação.

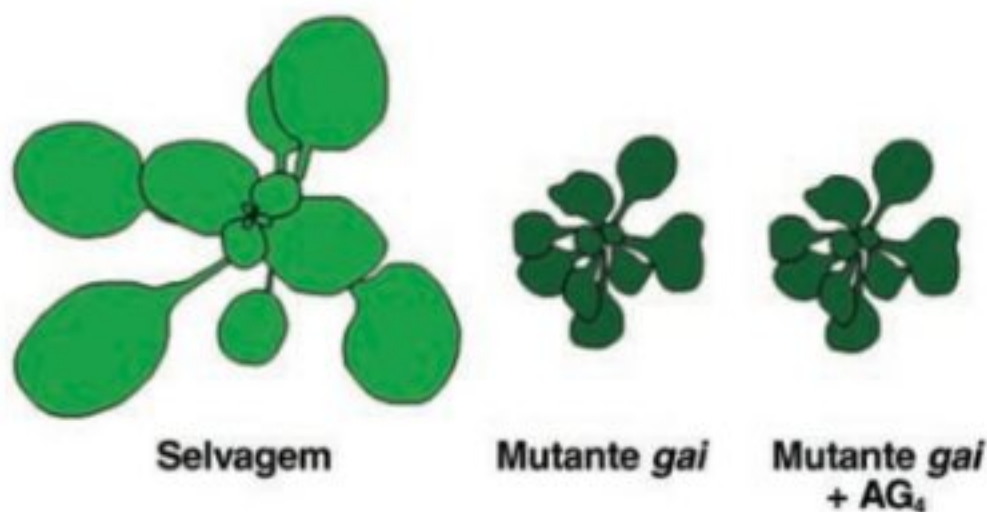
As sementes de cereais como modelo de estudo da transdução do sinal de giberelinas

As giberelinas desempenham um papel crucial na germinação e sua função nesse processo tem sido extensivamente investigada utilizando-se sementes de cereais como modelo de estudo.

**FIGURA 11.8**

Componentes-chaves na percepção do sinal de giberelinas em arroz. O esquema mostra à esquerda uma condição celular em que os teores endógenos de AG são reduzidos e os genes de respostas às giberelinas estão reprimidos por ação da proteína SLR1 (DELLA). À direita verifica-se a condição em que os teores endógenos de giberelinas se encontram elevados, permitindo a interação de AG ao receptor GID1 (1), o que leva à ligação de SLR1 ao complexo SCF^{GID2} para a ubiquitinação (2). Em seguida, a proteína SLR1 é degradada pelo proteossomo 26S (3), liberando, portanto, os genes de respostas às giberelinas da repressão.

O endosperma das sementes de cereais é composto pelo endosperma amiláceo e por uma camada de células que o circunda externamente, denominada de camada de aleurona. Essa camada de células contém numerosos corpos protéicos, bem como oleosomos (vesículas armazenadas de lipídios), e sua função destina-se à síntese e secreção das enzimas hidrolíticas. Os compostos

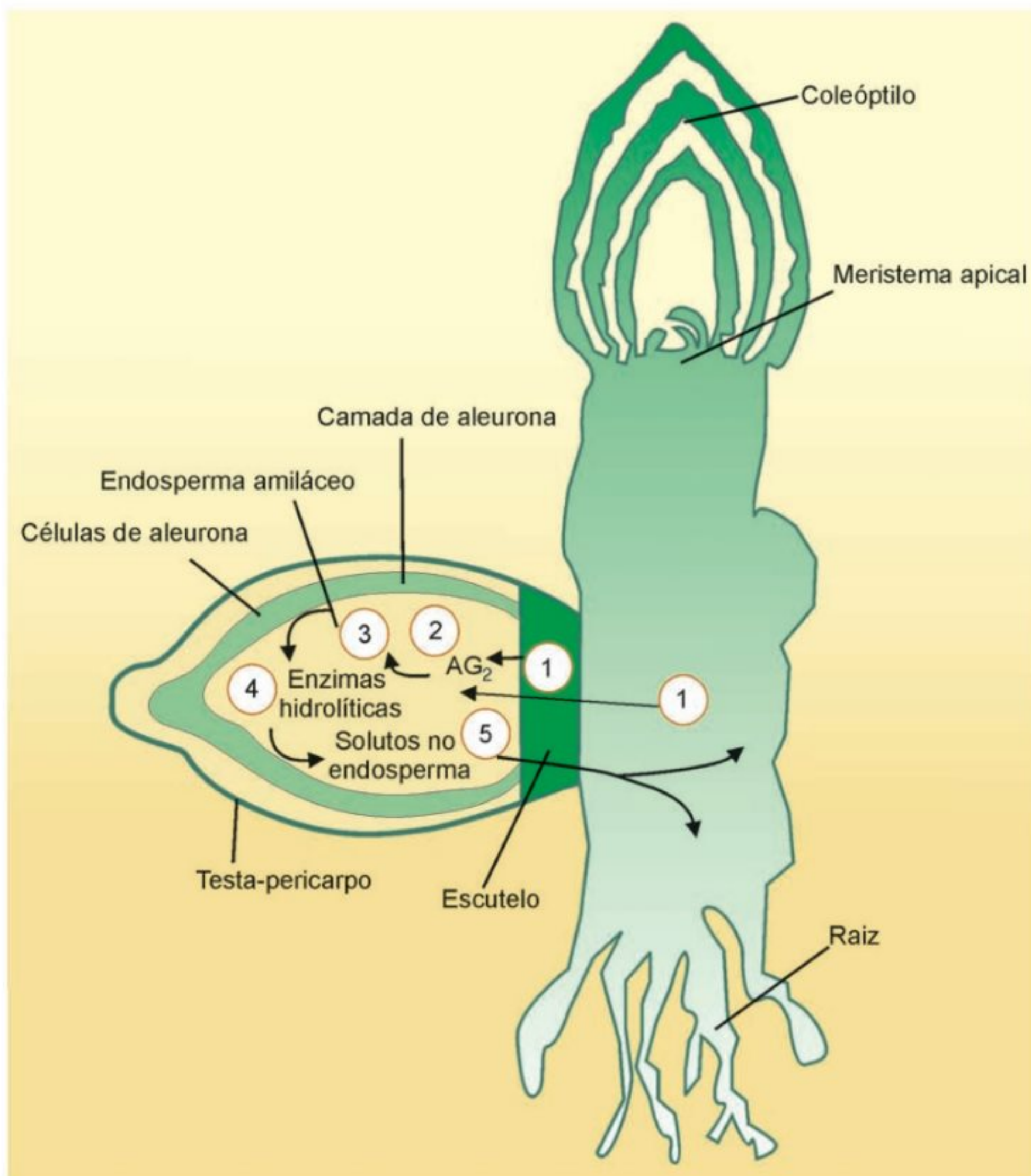
**FIGURA 11.9**

Plantas mutantes *gai-1* de *Arabidopsis*, com a proteína DELLA deficiente, apresentam um fenótipo semelhante aos mutantes deficientes na biossíntese de AG; no entanto, essas plantas não apresentam a retomada do crescimento quando tratadas com AG exógeno, indicando que são insensíveis às giberelinas.

de reserva da semente são metabolizados por essas enzimas hidrolíticas durante o processo de germinação, originando açúcares, aminoácidos e outros produtos que são transportados ao embrião. Dentre as enzimas produzidas, destacam-se α - e β -amilase, as quais atuam sobre a degradação do amido; a primeira produz oligossacarídeos, que são, então, degradados pela segunda, resultando no dissacarídeo maltose, que é, finalmente, convertido a glicose pela enzima maltase.

Na década de 1960 foi possível confirmar a observação original do ilustre botânico alemão G. Haberland, feita em 1890, segundo a qual a secreção de enzimas degradadoras de amido pela camada de aleurona de cevada dependia da presença do embrião, sugerindo a existência de uma substância difusível, produzida pelo embrião, a qual estimularia a produção de α -amilase pela camada de aleurona. Passado mais de um século, Lenton *et al.*, em 1994, comprovaram que as giberelinas eram sintetizadas e liberadas pelo embrião e transportadas ao endosperma durante a germinação, mostrando que o embrião de sementes embebidas dos cereais regula a mobilização de suas reservas pela secreção de giberelinas que estimulam a função digestiva na camada de aleurona (Fig. 11.10).

As evidências de que o AG poderia aumentar a produção de α -amilase no nível de transcrição foram reforçadas pelos estudos

**FIGURA 11.10**

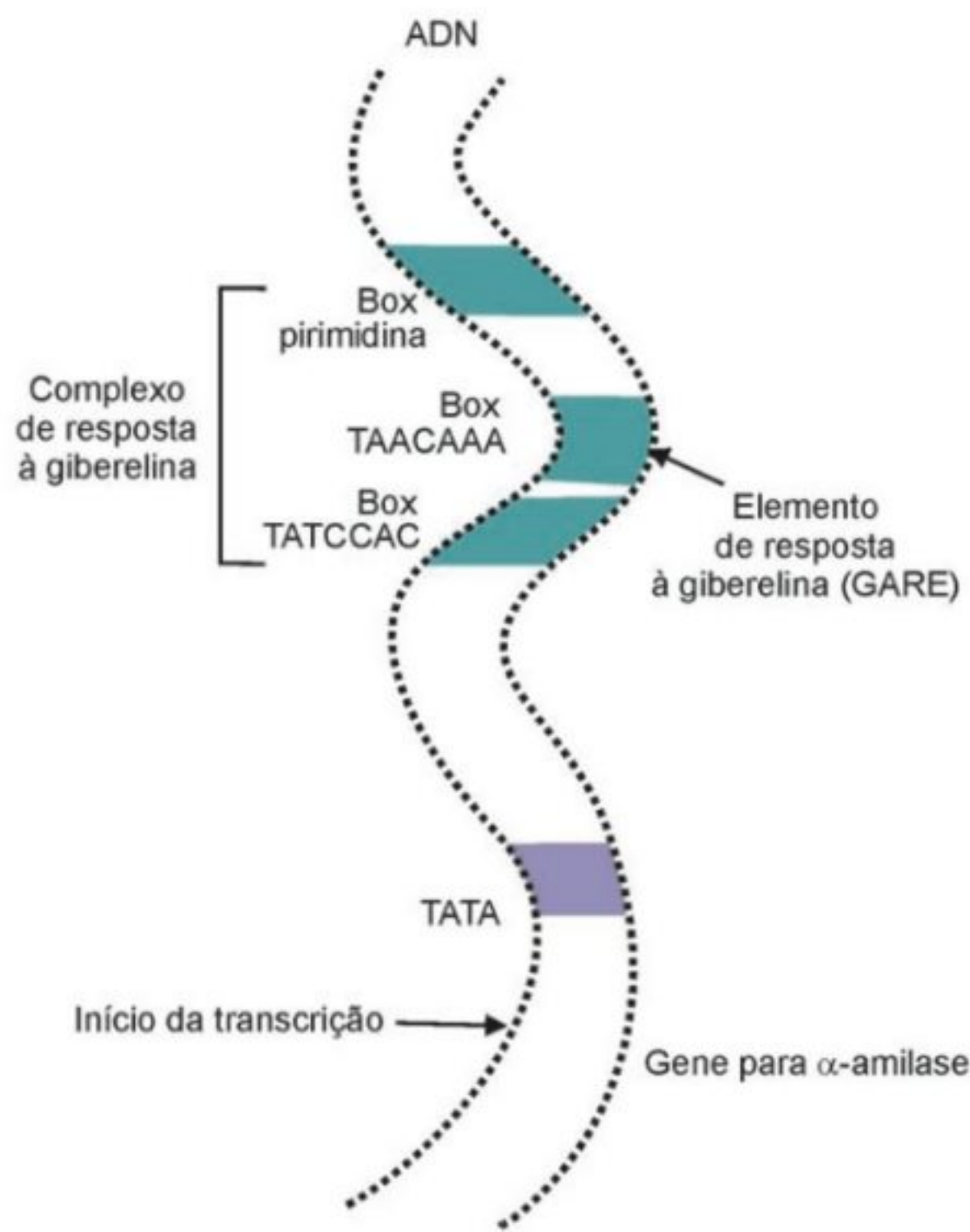
Representação esquemática da semente da cevada em germinação e estrutura funcional de seus principais tecidos. (1) Giberelinas são sintetizadas pelo coleóptilo e escutelo do embrião e difundidas ao endosperma amiláceo e à camada de aleurona (2), a qual é induzida a produzir e secretar α -amilase e outras hidrolases no endosperma amiláceo (3), que é então desdobrado em pequenas moléculas (4). (5) Os solutos do endosperma são absorvidos pelo escutelo e transportados ao embrião em germinação.

com isótopos radioativos, que revelaram que a atividade da α -amilase, estimulada pelas giberelinas, ocorria prioritariamente pela síntese *de novo* da enzima e que esse estímulo poderia ser bloqueado por inibidores da transcrição e da tradução.

Estudos com promotores de α -amilase em cevada revelaram que as seqüências associadas à expressão gênica para a α -amilase em resposta às giberelinas estão entre 200 e 300 pares de bases antes do início da região codificadora (Fig. 11.11). Uma seqüência específica (TAACAAA), chamada de seqüência de resposta à giberelina, é capaz de induzir a capacidade de resposta ao AG.

Por outro lado, a alteração de uma seqüência específica pode resultar na perda da expressão induzida pelo AG₃. De acordo com Jacobsen *et al.* (1995), determinadas seqüências, conhecidas como Box de pirimidinas (seqüências-alvo de regulação gênica), podem ser necessárias para a resposta ao AG. Essas seqüências são conhecidas como complexo de resposta à giberelina (CRG), supondo-se a existência de uma interação de fatores de transcrição do CRG no Box TATA.

Verificou-se, posteriormente, que a ação das giberelinas sobre a indução da expressão da α -amilase é exercida por meio da

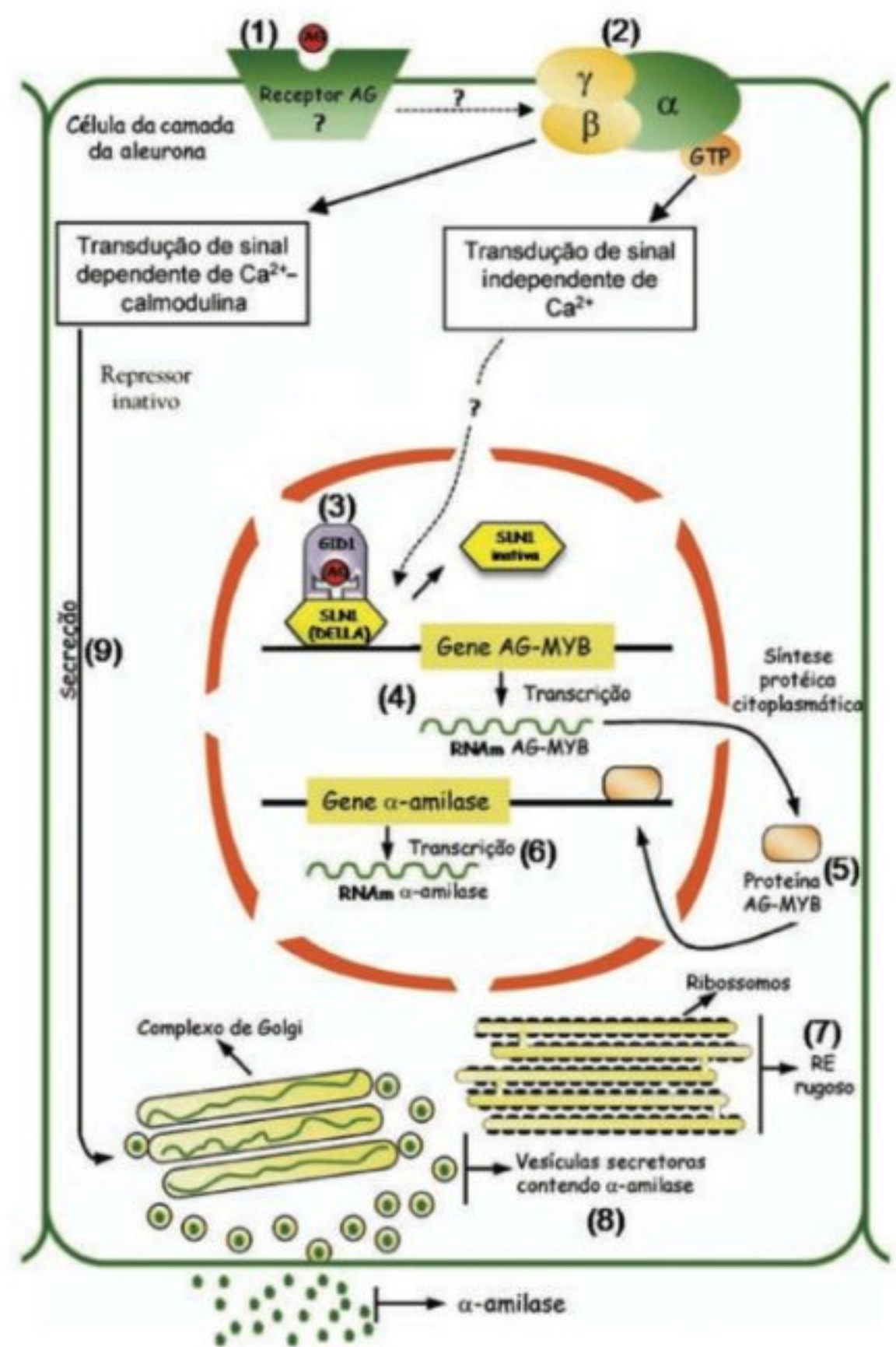
**FIGURA 11.11**

Representação da região promotora do gene para a α -amilase mostrando o complexo de resposta ao AG, o Box TATA (tiamina-adenina) e o sítio de início de transcrição. (Adaptada de Jacobsen *et al.*, 1995.)

eliminação dos efeitos inibitórios da germinação exercidos pelas proteínas DELLA. Segundo o modelo de sinalização proposto, a presença de giberelinas promove uma rápida degradação das proteínas SLN1 de cevada e SLR1 de arroz (ambas pertencentes à família das proteínas DELLA), assim como também da proteína DELLA de *Arabidopsis* (RGL2), a qual desempenha um importante papel na inibição da germinação (ver item anterior para detalhes da proteólise de DELLA).

Dessa forma, a degradação das proteínas DELLA nos núcleos das células de aleurona permite a ativação de um importante componente de resposta às giberelinas chamado de AG-MYB. AG-MYB é um fator de transcrição induzido por giberelinas que desencadeia a expressão de α -amilase e outras hidrolases e proteases, permitindo a mobilização de nutrientes armazenados no endosperma. O intervalo de 1 hora entre a degradação de proteínas DELLA e a indução de AG-MYB sugere que esse fator de transcrição poderia não ser um alvo direto das proteínas DELLA; no entanto, esse passo da transdução do sinal de giberelinas ainda não é bem entendido (Fig. 11.12).

A ativação da resposta primária do gene AG-MYB envolve passos intermediários relacionados com a ligação da molécula de giberelina ao receptor de membrana. Íons de cálcio são conside-

**FIGURA 11.12**

Modelo proposto para a síntese de α -amilase induzida pela giberelina na camada de aleurona da cevada. (1) Ligação do AG derivado do embrião a um suposto receptor de membrana, desencadeando duas cadeias de transdução de sinais. (2) O complexo AG-receptor hipoteticamente interage com uma proteína heteromérica G, dando início a duas cadeias de transdução de sinais, uma dependente e outra independente de Ca^{2+} , sendo que ambas podem, potencialmente, participar do controle da expressão gênica exercido pelo AG. A ligação de AG ao receptor GID1 leva à inativação da proteína repressora de transcrição gênica SLN1 dentro do núcleo (3). Essa inativação permite a expressão do gene AG-MYB (4), bem como de outros genes reprimidos, ocorrendo a transcrição e tradução (5). No núcleo, a proteína AG-MYB liga-se ao promotor do gene para α -amilase, ativando a sua transcrição (6). As proteínas, depois de sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso (7), são secretadas via aparato de Golgi (8). A rota de secreção pode ser também estimulada pelo AG por meio de uma rota de transdução de sinais dependente de cálcio-calmodulina (9). (Adaptada de Taiz e Zeiger, 1998.)

rados mensageiros secundários para vários hormônios, sendo que, em protoplastos de aleurona de cevada, observou-se um aumento na concentração de Ca^{2+} no citossol em resposta às giberelinas. Esse aumento ocorreu entre 1 e 4 horas após o tratamento com o AG e precedeu a síntese de α -amilase. Assim, sugere-se que

giberelinas estimulem a secreção de α -amilase e outras hidrolases por uma rota dependente de cálcio, enquanto o estímulo dado pelas giberelinas para a expressão do gene da α -amilase ocorra por uma rota independente de cálcio (Fig. 11.12).

Alguns indícios obtidos com análises da transdução do sinal das giberelinas em células de aleurona revelaram que as proteínas heterotriméricas G poderiam estar associadas aos eventos iniciais de sinalização dessa classe hormonal. Assim, um modelo de ação das giberelinas foi proposto baseado na ligação do AG a um receptor localizado na face interna da membrana, seguido pela interação do complexo AG-receptor a uma proteína heterotrimérica G. No entanto, essa proposta foi de certa forma prejudicada após a descoberta do receptor *GID1*, que possui natureza única em cereais e localização predominantemente nuclear, podendo estar presente em menor grau no citoplasma. Essas observações levantaram questões intrigantes sobre a complexidade que envolveria o cruzamento das vias de transdução de sinal de giberelinas para respostas genômicas (envolvem transcrição gênica) e não-genômicas (sem transcrição gênica). Ainda que não bem estabelecido, sugere-se a existência de receptores de giberelinas com localização citossólica ou ligados à membrana plasmática que participem na ativação dos intermediários citossólicos na cadeia de transdução do sinal de giberelinas em células de aleurona.

Um modelo esquemático dos fatores bioquímicos e genéticos envolvidos com a síntese e secreção da α -amilase no modelo de células de aleurona encontra-se resumido na Fig. 11.12.

EFEITOS NO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO VEGETAL

As giberelinas desempenham papéis importantes no controle de todos os estágios do desenvolvimento das plantas, sendo que a sua ação freqüentemente ocorre de maneira integrada a outros hormônios vegetais. A Fig. 11.13 apresenta uma visão geral dos efeitos das giberelinas, juntamente aos das demais classes hormonais, nos principais eventos do desenvolvimento durante o ciclo de vida de plantas superiores. A maneira pela qual as giberelinas atuam sobre cada um desses processos será detalhada a seguir.

Quebra de dormência em sementes e germinação

As giberelinas são conhecidas por antagonizar os efeitos promotores do ácido abscísico sobre a dormência de sementes (ver Cap. 12, Ácido Abscísico), bem como por promover a germinação em várias espécies. Tem sido proposto que as giberelinas não estariam diretamente envolvidas no controle da dormência e, sim, na promoção da germinação. Assim, elas agiriam depois que a inibição mediada pelo ácido abscísico tenha sido superada (Fig. 11.14). As giberelinas, freqüentemente, em combinação com as citocininas, podem substituir a necessidade de vários sinais ambientais para promover a germinação, minimizando os efeitos inibitórios do ABA. Em sementes de algumas espécies ocorre um

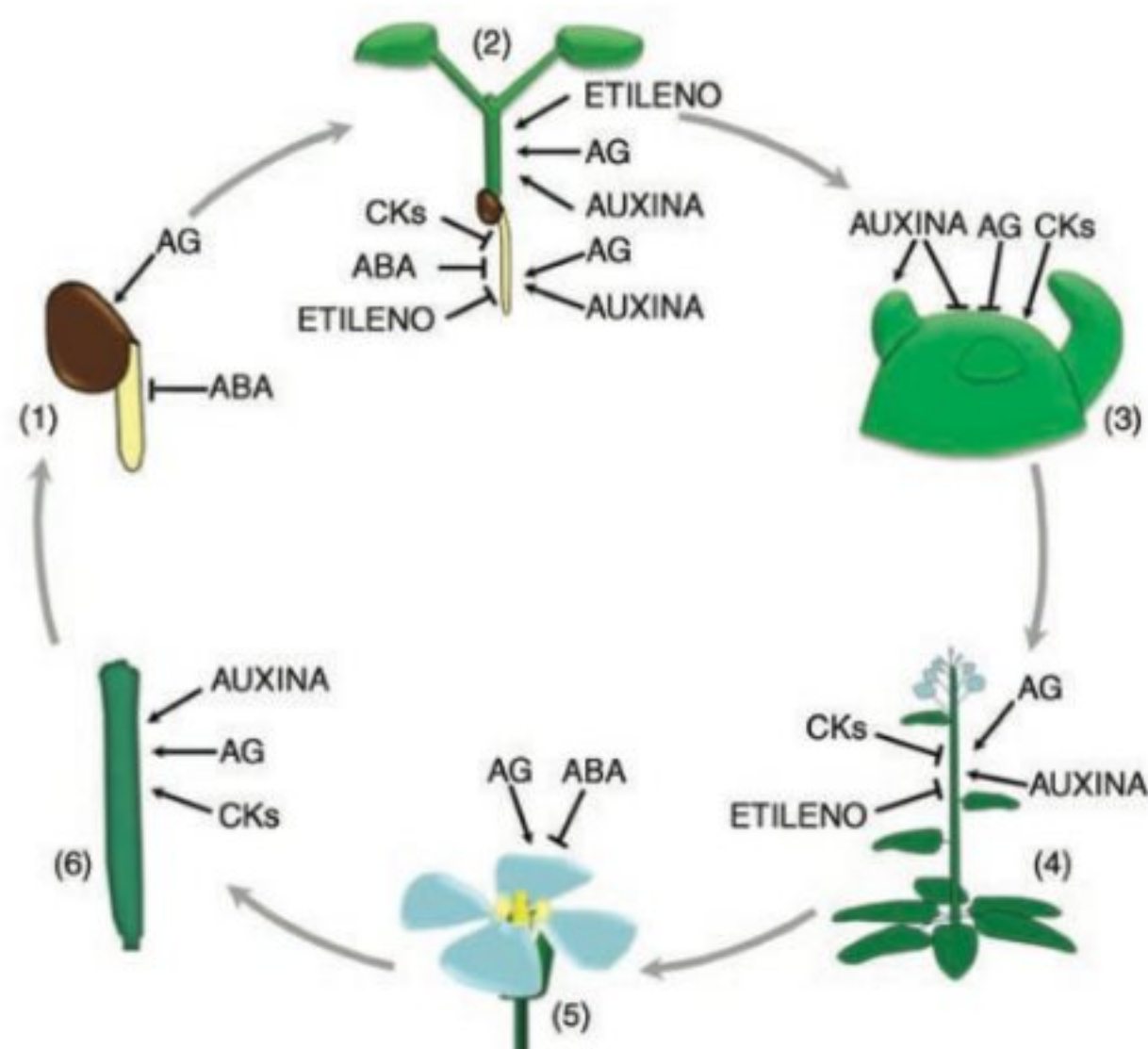


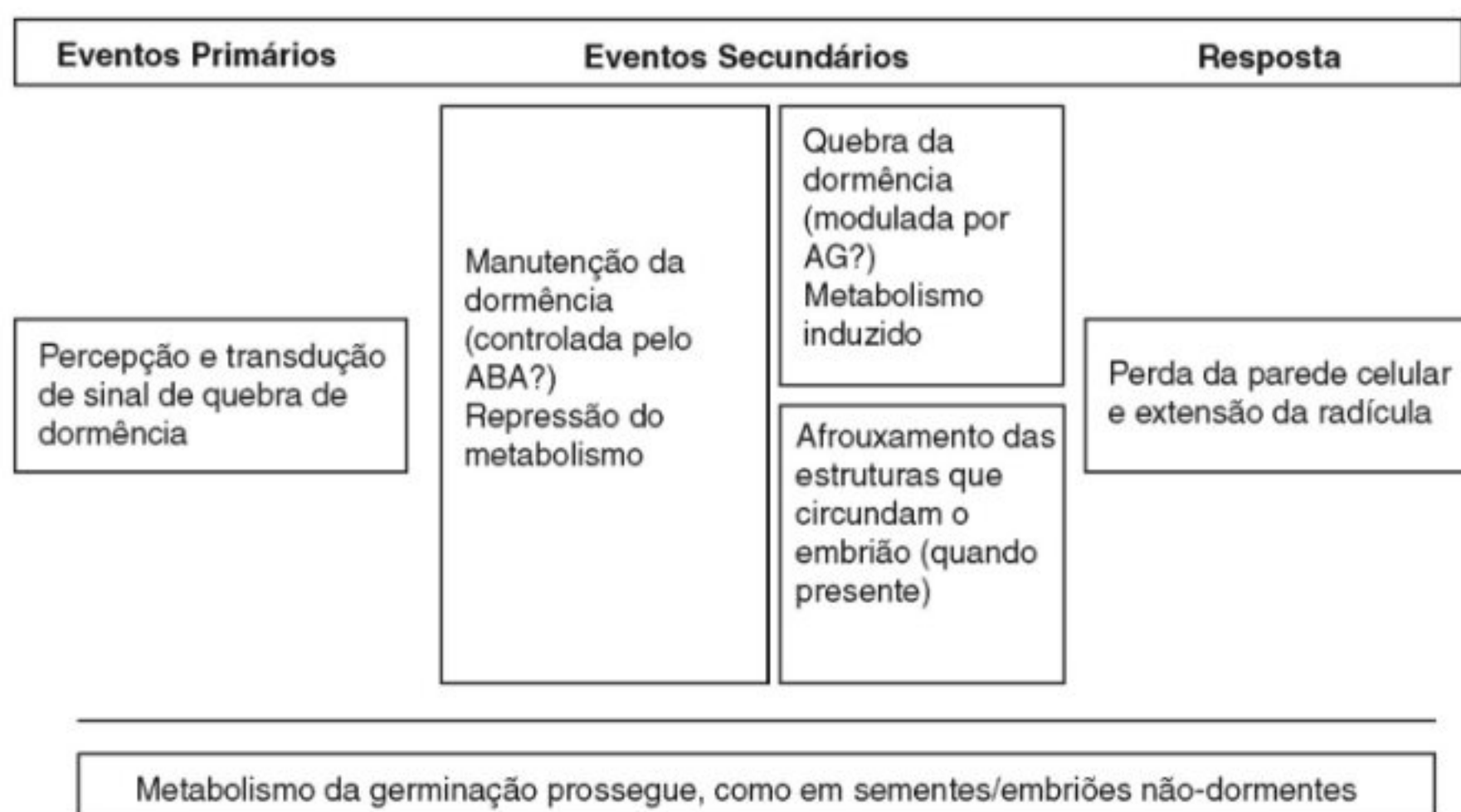
FIGURA 11.13

As giberelinas interagem positivamente e negativamente com outros hormônios vegetais ao longo de todo o ciclo de vida da planta. Alguns dos efeitos desses hormônios estão indicados tomando como exemplo o ciclo de vida de *Arabidopsis thaliana*, (1) germinação; (2) crescimento dos órgãos vegetativos da plântula; (3) manutenção da atividade do meristema apical caulinar; (4) alongamento do eixo caulinar; (5) indução floral; (6) desenvolvimento do fruto. Cks indica citocininas e AG indica giberelinas. (Adaptada de Weiss e Ori, 2007.)

aumento nos níveis de giberelinas em resposta a um estímulo externo, mas não há evidências de que essa elevação seja importante para a quebra da dormência.

Em *Arabidopsis* obtiveram-se indícios da biossíntese *de novo* de giberelinas durante a germinação, por meio da aplicação de substâncias inibidoras de sua síntese, uma vez que esse tratamento bloqueou o evento germinativo nas sementes. Mais recentemente, verificou-se que os embriões de algumas espécies possuem potencial para germinar sem a necessidade de biossíntese ou sinalização de giberelinas; no entanto, AG se mostrou necessário para superar a resistência mecânica das estruturas da semente que circundam o embrião durante a germinação.

Dessa forma, propõem-se duas funções principais de AG durante a germinação. A primeira delas é que as giberelinas são necessárias para a superação da barreira mecânica conferida pelas camadas da casca da semente, por enfraquecimento dos tecidos ao redor da radícula. Durante a germinação de sementes de *Arabidopsis* verificou-se, por exemplo, que o papel das giberelinas na penetração da radícula através da testa da semente esteve relacionado à indução da expressão de genes promotores do alongamento celular, como as expansinas, e de genes de modificação da parede celular, como o caso da proteína β -glicosidase, cuja atividade seria importante para a necessária perda da estrutura da parede celular e, conseqüentemente, para o alongamento celular (ver Cap. 8, Parede Celular).

**FIGURA 11.14**

Representação esquemática dos principais eventos associados à quebra de dormência em sementes.

A segunda função sugerida para as giberelinas na germinação estaria ligada ao aumento do potencial de crescimento do embrião, incluindo o controle do crescimento do eixo embriônico e de tecidos em desenvolvimento (caulinares e radiculares). Esse efeito parece ser exercido por meio da diminuição da expressão de genes responsivos ao ácido abscísico, bem como pela indução de outros relacionados ao etileno e auxina e, portanto, envolvidos no crescimento da plântula. Esses dados sugerem que AG possa promover a extrusão da radícula por meio de interações com outros hormônios. Deve-se ressaltar ainda o efeito do AG na indução das enzimas que degradam o amido no endosperma das sementes, como descrito anteriormente neste capítulo.

O modo de ação central pelo qual as giberelinas promovem a germinação, também discutido anteriormente, ocorre por meio do antagonismo exercido por essa classe hormonal sobre os efeitos inibitórios das proteínas DELLA na germinação. O mutante *gai* de *Arabidopsis* (deficiente para uma proteína DELLA) é caracterizado por uma sensibilidade diminuída ao AG em relação à liberação da dormência e germinação. Nesses mutantes não foi verificada uma taxa significativa de germinação no escuro; somente a combinação de luz com frio ou dessecação causou a liberação da dormência e a germinação das sementes. A germinação das sementes de algumas espécies, principalmente não-domesticadas, é dependente da luz ou de baixas temperaturas, cujos efeitos podem ser substituídos pelo AG exógeno.

Um exemplo prático do efeito promotor das giberelinas exógenas sobre a germinação foi obtido com o tratamento de sementes da lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller) com AG₃. Essas sementes foram embebidas por 18 horas em solução de 200 mg/L de AG e apresentaram um índice de germinação de 89,9% em um tempo médio de 10,5 dias, em comparação à taxa de germinação de 22,6% para o controle com água destilada. Nesse caso, o tempo médio de germinação foi de 18,7 dias. Assim, esses resultados mostraram que o AG₃ aumentou significativamente

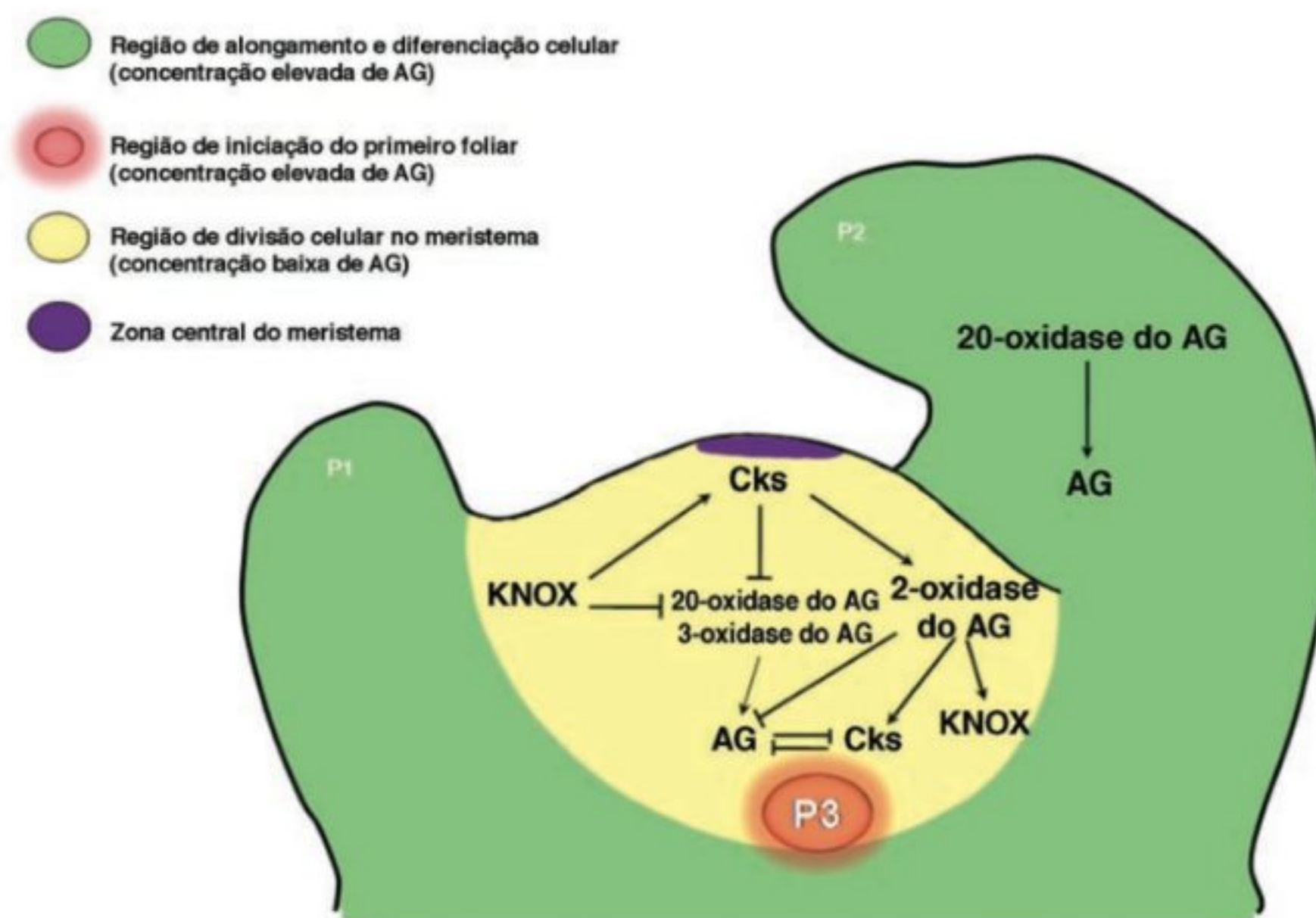
a porcentagem de germinação nessa espécie, além de acelerar tal processo.

Controle do meristema apical caulinar e iniciação de folhas

Na região central do meristema apical caulinar (MAC) encontra-se um grupo de células que se divide lentamente, as quais são fonte de todas as células meristemáticas e, conseqüentemente, de todos os órgãos caulinares. A região central fornece regularmente novas células ao corpo do meristema, onde se observa intensa atividade mitótica e baixo grau de diferenciação celular. Na região periférica do meristema, por sua vez, encontram-se células que irão participar da iniciação de novos órgãos, como, por exemplo, primórdios foliares.

As giberelinas possuem uma importante participação no controle das populações de células dentro do MAC, auxiliando na sinalização que definirá respostas que variarão entre a permanência do caráter meristemático das células ou a especificação de um destino de diferenciação. Nesses processos as giberelinas atuam em conjunto, porém de maneira antagônica com as citocininas. Estudos recentes têm mostrado a existência de interações recíprocas entre esses dois hormônios, onde as citocininas inibem a produção de giberelinas, ao passo que AG inibem as respostas de citocininas. No interior do MAC, o balanço entre esses dois hormônios caracteriza-se por baixos teores de giberelinas associados a concentrações elevadas de citocininas, e é tido como pré-requisito para a função normal do meristema apical caulinar.

A manutenção desse balanço favorável às citocininas no MAC garante a predominância dos efeitos estimulatórios dessa classe hormonal sobre a manutenção das divisões celulares e inibição da diferenciação dentro do MAC (ver Cap. 9, Auxinas). Análises do perfil de expressão gênica mostraram que o tratamento de

**FIGURA 11.15**

Interações entre giberelinas (AG) e citocininas (Cks) na regulação da função do meristema apical caulinar (MAC). Flechas indicam regulação positiva e barras em T indicam regulação negativa. P1, P2 e P3 indicam os primórdios foliares na ordem de formação. A proteína KNOX atua juntamente às Cks e AG dentro do MAC de maneira a estabelecer um balanço entre citocininas e giberelinas favorável às citocininas. Na região dos primórdios foliares verifica-se a predominância de giberelinas. O controle dos teores endógenos dos hormônios é exercido, principalmente, pela regulação biossintética.

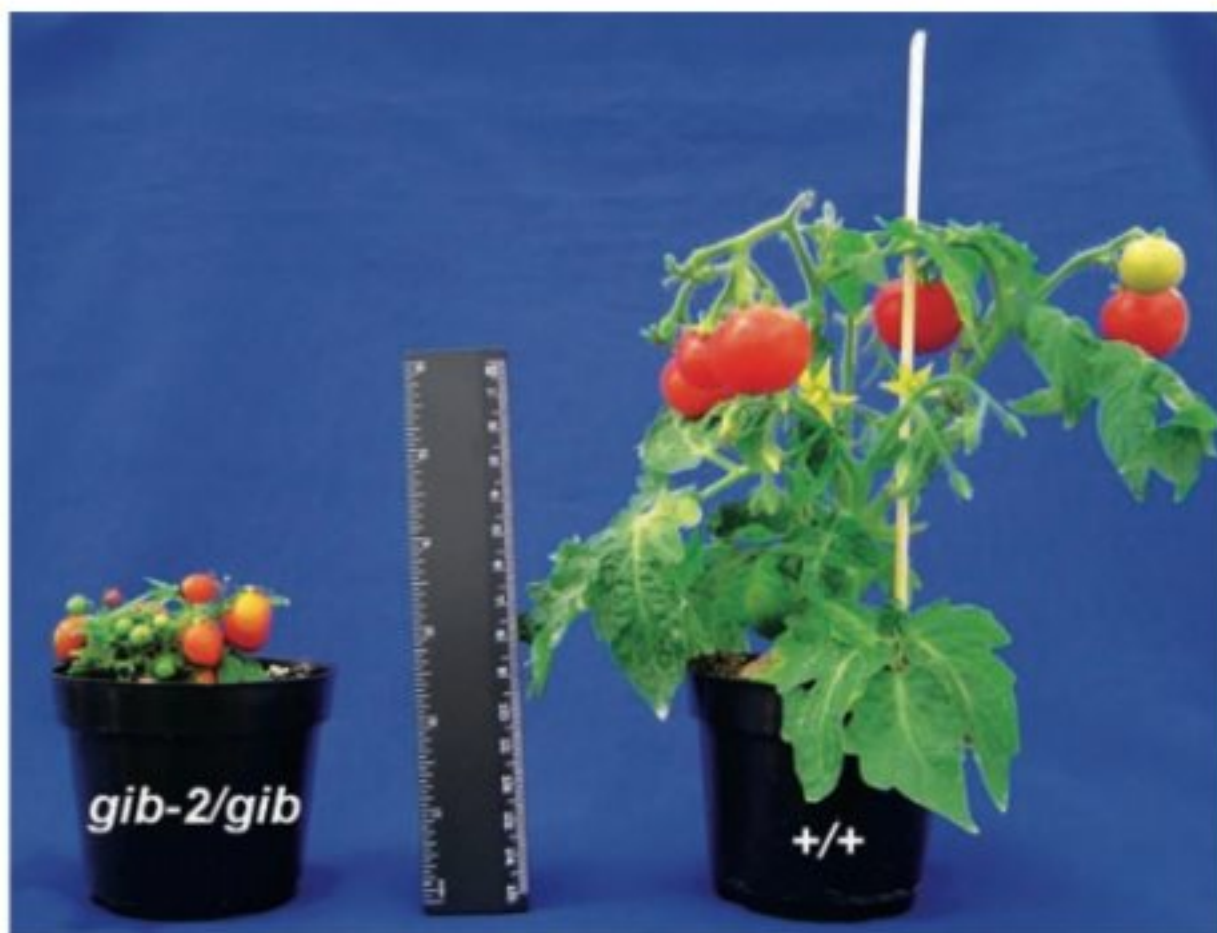
plântulas de *Arabidopsis* com citocininas inibia a expressão dos genes que codificam para enzimas biossintéticas de giberelinas (20-oxidase do AG e 3-oxidase do AG), bem como promovia a expressão dos genes *RGA* e *GAI* (responsáveis pela transcrição das proteínas do tipo DELLA, repressoras de respostas ao AG) (Fig. 11.15). Esses resultados indicam que as citocininas também podem regular negativamente as respostas às giberelinas dentro do MAC.

O balanço entre giberelinas e citocininas no MAC também é assegurado por um mecanismo regulatório que conta com a participação do fator de transcrição KNOTTED1-like homeobox (KNOX). A expressão de KNOX dentro do MAC auxilia na manutenção das características meristemáticas das células dentro do meristema caulinar, devido ao fato de que ele induz a expressão de genes de biossíntese de citocininas, assim como promove o acúmulo desse hormônio no meristema. Estudos bioquímicos e de hibridização *in situ* em folhas de *Arabidopsis* e tabaco mostraram que as proteínas KNOX também controlam negativamente os teores de giberelinas no MAC por ligar-se ao promotor do gene responsável pela síntese da enzima 20-oxidase do AG, reprimindo diretamente a sua transcrição. Complementarmente, tanto KNOX quanto as citocininas são induzidos pela expressão do gene que codifica para a enzima 2-oxidase do AG na base do MAC (enzima que desativa AG), talvez para bloquear os GA biologicamente ativos, permitindo assim que seus teores permaneçam reduzidos no interior do MAC (Fig. 11.15).

Enquanto a atividade e manutenção do MAC necessitam de teores relativamente elevados de citocininas e baixos de giberelinas, nos estágios subsequentes de alongamento e maturação celular verifica-se um sinergismo oposto, ou seja: teores relativamente baixos de citocininas e elevados de AG. Dessa forma, verifica-se um acúmulo de giberelinas na região coincidente com a iniciação do primórdio foliar, o qual promove a determinação das células aí presentes para a diferenciação foliar (Fig. 11.15). O mecanismo que proporciona a elevação de giberelinas numa porção definida da periferia do MAC ainda não é muito bem esclarecido. No entanto, sabe-se da presença da 20-oxidase do AG nos primórdios foliares, indicando que esses sejam importantes sítios de biossíntese de AG.

Crescimento caulinar e alongamento celular

Dentre os muitos efeitos das giberelinas no desenvolvimento vegetal, um dos mais proeminentes é certamente sobre o crescimento caulinar (Fig. 11.16). Essa classe de hormônios possui a capacidade única entre os demais hormônios vegetais em estimular o crescimento em plantas intactas, especialmente plantas de hábito nanizante ou plantas bianuais em estágio de roseta (com entrenós bastante curtos). A maioria das dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas e coníferas crescem mais rápido quando tratadas com determinadas giberelinas. Em Pinaceae,

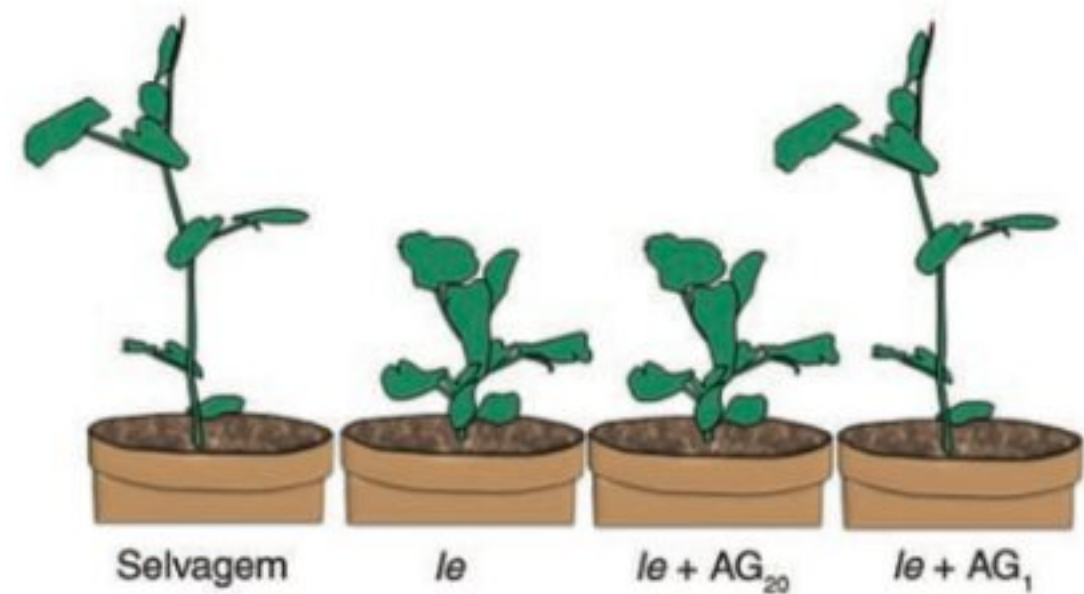
**FIGURA 11.16**

Exemplo de planta de tomateiro com a mutação *gib-2/gib*, a qual ocasiona a perda de função da enzima sintase do AG_{12} -aldeído, proporcionando deficiência na via biossintética de giberelinas. Dessa forma, as plantas *gib-2/gib*, quando comparadas aos indivíduos que não possuem tal mutação (simbolizado de $+/+$), apresentam tamanho reduzido. (Foto gentilmente cedida pelo Dr. Lázaro E. P. Peres; ESALQ-USP.)

por exemplo, algumas espécies respondem pouco ao AG_3 , mas crescem em resposta a uma mistura de AG_4 e AG_7 . Por outro lado, espécies com crescimento em roseta podem alcançar até 2 metros de altura e florescer em resposta à aplicação de AG_3 , enquanto as plantas não tratadas permanecem no estágio de roseta. Espécies de cucurbitáceas alongam-se com maior rapidez em resposta à aplicação de giberelinas que não apresentam o grupo hidroxila no carbono 13 (formadas pela via biossintética da não-hidroxi-lação 13).

A “diferença de tamanho do caule” em plantas de ervilha foi uma das sete características estudadas por Gregor Mendel em seus experimentos clássicos de hibridação vegetal, ao demonstrar que os indivíduos altos eram dominantes em relação aos anões. A simbologia adotada para os alelos dessa característica foi *Le* e *le*, baseando-se na palavra “altura” (do inglês *length*). Verificou-se, posteriormente, que o tratamento das plantas anãs com diferentes giberelinas causava respostas de crescimento caulinar distintas. Por exemplo, quando plantas anãs foram tratadas com AG_{20} (uma forma inativa de AG), não foi observada mudança no tamanho caulinar; no entanto, quando os mutantes foram tratados com AG_1 (principal forma de AG ativa em ervilha), o crescimento em altura foi retomado (Fig. 11.17). Posteriormente, descobriu-se que o par de alelos *Le* correspondia ao gene que codificava uma enzima-chave da biossintese de giberelinas.

A enzima codificada pelo gene *Le* em ervilhas é a 3-oxidase do AG (ou 3- β hidroxilase do AG), cuja atividade é responsável pela conversão de AG_{20} na forma bioativa AG_1 . Dessa forma, as plantas de ervilha anãs inicialmente descritas por Mendel (homozigotas *le*) foram relacionadas com a deficiência desse passo

**FIGURA 11.17**

Experimento com plantas mutantes de ervilha deficientes no alelo *Le*, responsável pela transcrição da 3-oxidase do AG. O tratamento das plantas anãs com AG_{20} (uma forma inativa de AG) não permitiu aumento no tamanho caulinar; no entanto, o tratamento com AG_1 (principal forma de AG ativa em ervilha) provocou a retomada do crescimento das plantas em altura. Esse experimento ilustra o passo em que a 3-oxidase do AG atua na via biossintética de giberelinas, ou seja, na conversão de AG_{20} na forma bioativa AG_1 .

biossintético de giberelinas, o qual acarretou a presença de teores endógenos de AG_{20} altamente elevados e concentrações de AG_1 muito inferiores nos caules das plantas mutantes em relação aos de plantas altas. A aplicação de giberelinas permite também que plantas mutantes de milho anão com deficiência na biossintese de AG cresçam tanto quanto as variedades normais. Estudos revelaram que somente o AG_1 controla o alongamento do colmo de milho e que todos os mutantes anões não produzem a enzima 3-oxidase do AG, a qual catalisa a conversão de AG_{20} em AG_1 . Assim como observado em milho e ervilha, o AG_1 é a principal giberelina associada ao alongamento caulinar de várias outras espécies, como nabo, tomate, arroz e trigo.

Há fortes evidências experimentais de que as giberelinas, juntamente com as auxinas, promovam a expansão/alongamento celular por exercerem efeitos sobre a parede celular. A relação entre esses dois hormônios quanto a esse fenômeno ainda é controversa. No entanto, a hipótese mais aceita atualmente sugere que as giberelinas sejam promotoras do alongamento celular preferencialmente em células jovens e as auxinas, por sua vez, sejam as principais promotoras da expansão celular em regiões em maturação (ver Cap. 9, Auxinas). Verificou-se, por exemplo, que em entrenós de aveia o alongamento decorre mais do crescimento das células jovens derivadas do meristema intercalar e menos como resultado da divisão celular. O alongamento que ocorre em resposta ao AG_3 foi 15 vezes superior ao crescimento observado nos tratamentos sem AG_3 . Esse incremento na plasticidade da parede celular mediado pelas giberelinas foi também observado em segmentos de hipocótilo de alface e em hipocótilos intactos de pepino.

Uma explicação para esses eventos refere-se ao fato de que uma das pré-condições para o alongamento celular relaciona-se com as microfibrilas de celulose, as quais devem orientar-se perpendicularmente à direção do crescimento. A indução do

alongamento celular pelas giberelinas pode estar limitada às células meristemáticas e jovens porque suas microfibrilas estão orientadas transversalmente. Sob a influência do AG, essa orientação transversa é mantida por uma distância considerável, ampliando assim a zona de alongamento do órgão. Por outro lado, auxinas causam reorientação da deposição das microfibrilas de celulose, da posição oblíqua/longitudinal para a posição transversal, promovendo assim o alongamento das células que pararam de crescer. Isso poderia explicar por que a ação do AG ocorre preferencialmente em regiões jovens, onde promove o alongamento, enquanto as auxinas podem promover a expansão de células mais velhas (ver Cap. 9, Auxinas).

No entanto, estudos recentes revelaram que as atividades de giberelinas e auxinas se sobrepõem na regulação da expansão celular e diferenciação tecidual. Foi verificado que auxinas afetam a sinalização de AG assim como também a sua biossíntese. Segundo esses dados, as auxinas regulam positivamente a expressão de genes biossintéticos de giberelinas, sendo que AIA (uma importante auxina) promove a produção de AG₁ via aumento da transcrição da 3-oxidase do AG e diminuição da transcrição de 2-oxidase do AG (ver Cap. 9, Auxinas). Além disso, a auxina também promove a degradação de DELLA, resultando na desrepressão das respostas às giberelinas.

Crescimento por divisão celular

Plantas de arroz submetidas a inundação freqüente têm sido empregadas como modelo de estudos para o estímulo da divisão celular mediado pelas giberelinas. Em condições de inundação, essas plantas aumentam rapidamente a taxa de crescimento, a qual ocorre principalmente no meristema intercalar de entrenós mais jovens. Em tecidos encharcados, ocorre um aumento na síntese de etileno, resultando em uma diminuição nos níveis de ABA, que, por sua vez, age como antagonista às giberelinas. Em decorrência disso, o tecido torna-se mais responsivo ao AG endógeno.

Sauter e Kende (1992) estudaram o efeito do AG sobre o ciclo celular em núcleos de células do meristema intercalar, os quais tiveram seu DNA quantificado pela técnica de citometria de fluxo. A quantidade de DNA em um núcleo haplóide foi estabelecida como sendo 1C; núcleos na fase G₁ e G₂ do ciclo celular apresentaram quantidades de DNA de 2C e 4C, respectivamente, e núcleos na fase S apresentaram valores intermediários de DNA. Logo após a aplicação de AG exógeno, 83% dos núcleos encontravam-se na fase G₁ do ciclo celular, enquanto 10 e 7% dos núcleos encontravam-se nas fases S e G₂, respectivamente (Fig. 11.18). Nas primeiras 4 horas após o tratamento com AG, observou-se uma redução na proporção de núcleos nas fases G₂ e S, bem como um aumento na proporção de núcleos em G₁.

Com base nos resultados obtidos e considerando a cinética de crescimento e a dinâmica do ciclo celular, os autores propuseram que o efeito primário de giberelinas relaciona-se com a indução do alongamento celular no meristema intercalar, processo esse que é seguido por ciclos de divisões celulares, que ocorrem, inicialmente, a partir das células que tiveram seu DNA duplicado e

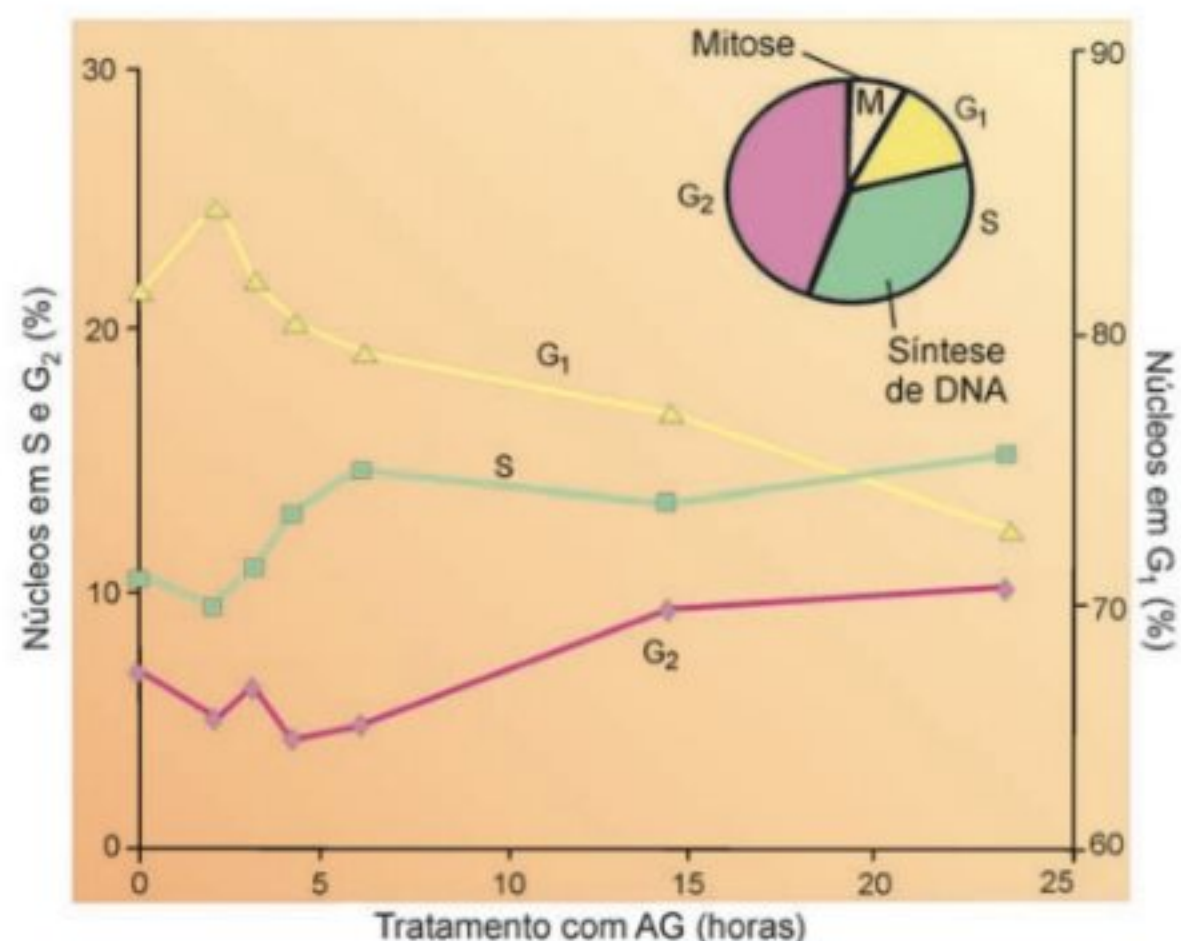


FIGURA 11.18

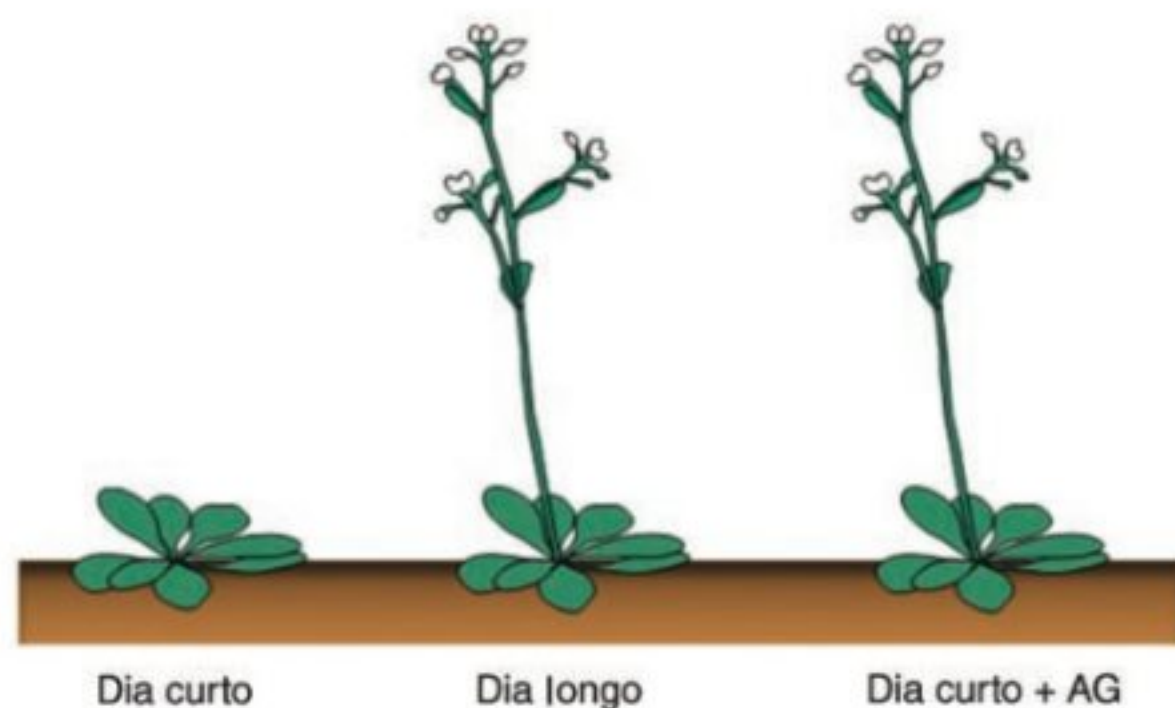
Alterações no ciclo celular de núcleos do meristema intercalar de entrenós de arroz em resposta ao tratamento com AG. Observar as fases e escalas do ciclo celular na parte superior. (Adaptada de Sauter e Kende, 1992.)

que, em consequência, estão na fase G₂ do ciclo celular. Depois de 7 horas do tratamento com AG, observa-se um aumento no número de células que estão na fase G₂, aspecto esse que indica um estímulo geral para a divisão celular. O fato de ocorrer uma diminuição no número de células em G₂ depois de 4 horas do tratamento com AG sugere que esse hormônio regula o ciclo celular na transição entre a mitose e a fase G₂.

A transição entre as diferentes fases do ciclo celular é regulada por proteínas cinases dependentes de ciclinas (CDKs). As medidas dos níveis de transcrição de dois genes que codificam para CDKs em arroz inundado revelaram um aumento nos níveis de expressão de um desses genes em resposta ao AG exógeno. Esse aumento foi correspondente à expressão de dois genes associados à divisão celular aumentando os níveis de uma proteína cinase específica do ciclo celular (Cdc2), bem como de ciclinas M necessárias para a entrada em mitose (ver Cap. 9, Auxinas).

Mudança de fase juvenil para madura, indução da floral e determinação do sexo

A incapacidade das plantas em florescer antes de atingirem determinado estágio é associada à juvenilidade. Plantas juvenis e adultas vegetativas e reprodutivas podem apresentar aspectos morfológicos diferenciados, como a forma das folhas, por exemplo. Dependendo da espécie, a aplicação de giberelinas pode regular a juvenilidade em ambos os sentidos. Assim, em *Hedera helix* o AG₃ pode causar a reversão de maturidade para juvenilidade, enquanto, em algumas coníferas, o inverso pode ocorrer como resultado do tratamento com AG₄ + AG₇. A aplicação de AG exógeno com essa finalidade vem sendo testada em programas de melhoramento genético de várias espécies de *Eucalyptus*. As

**FIGURA 11.19**

Algumas plantas em roseta são induzidas à floração em condições de dias longos; no entanto, a aplicação de giberelinas em plantas cultivadas sob dias curtos pode induzir o florescimento.

giberelinas podem substituir os efeitos mediados pelo fotoperíodo e pelas baixas temperaturas na indução floral de algumas plantas, sugerindo ser esse hormônio um dos componentes para o estímulo dessa indução (ver Cap. 18, Floração).

A participação das giberelinas é decisiva no processo de floração, tanto que plantas de *Arabidopsis* deficientes em AG apresentam atraso no tempo de floração e tendência à esterilidade da parte masculina das flores. Por outro lado, a aplicação de giberelinas, ou a superexpressão de genes da biossíntese de AG, provoca o adiantamento da floração nessas plantas. As giberelinas exógenas também podem substituir a indução fotoperiódica da floração em plantas em roseta. Um exemplo comum dessa ação de AG são as plantas em roseta que são induzidas à floração em condições de dias longos; no entanto, a aplicação de giberelinas em plantas cultivadas sob dias curtos induz o florescimento (Fig. 11.19). Nessas plantas, a floração é acompanhada pelo alongamento do caule, eventos esses considerados independentes. Também a aplicação de giberelinas pode promover a floração em algumas plantas de dia curto em condições não-indutivas, bem como pode substituir parcial ou totalmente os efeitos desencadeados pelas baixas temperaturas em plantas com necessidade de frio para a floração (ver Cap. 18, Floração).

O comprimento do dia exerce efeitos no metabolismo das giberelinas, como é o caso do espinafre (*Spinacia oleracea*), planta de dias longos. Em dias curtos, os níveis de giberelinas são baixos e a planta se mantém na forma de roseta. Em condições de dias longos, observa-se um aumento nos níveis das giberelinas da via da hidroxilação 13 inicial. O aumento de cinco vezes nos níveis de uma dessas giberelinas (especialmente a forma bioativa AG₁) causa o alongamento do caule que antecede a floração (ver Cap. 18, Floração).

Em plantas monóicas (produtoras de flores masculinas e femininas ou hermafroditas), as giberelinas têm efeito sobre a determinação do sexo, evento geneticamente regulado, mas também influenciado por outros fatores, notadamente ambientais. Em milho, por exemplo, dias curtos e noites frias promovem um

aumento de cerca de 100 vezes nos níveis de AG no pendão, aumentando a proporção de flores femininas. Esse efeito é também observado como resultado da aplicação de giberelinas. Em milho, foram isolados mutantes com padrões alterados de determinação de sexo. Mutações em genes que afetam a biossíntese de AG resultaram na supressão do desenvolvimento de estames nas flores da espiga. Em algumas dicotiledôneas, como *Cucumis sativus*, *Spinacia oleracea* e *Cannabis sativa*, o AG exógeno exerce efeitos contrários, observando-se a formação de flores estaminadas. Nessas espécies, tratamentos com etileno no estágio de flores bissexuais induzem a formação de flores femininas, sugerindo uma interação das giberelinas com outros hormônios na regulação da determinação do sexo.

Foi mostrado que o AG₃ pulverizado em plantas de abacateiro na fase de floração altera a fenologia e a morfologia da inflorescência. Aplicações feitas antes da formação dos eixos secundários da inflorescência reduziram a intensidade de floração. Aplicações feitas em estágios posteriores resultaram no desenvolvimento de brotos vegetativos com hábito indeterminado do ápice de inflorescências. Assim, o uso do AG₃ em níveis e estágios adequados pode permitir regularizar a produtividade do abacateiro afetada pela alternância de produção.

Estabelecimento e desenvolvimento de frutos

O estabelecimento do fruto, ou seja, o momento de decisão se o ovário se desenvolverá em fruto, é dependente de sinais positivos de crescimento que são dados a partir da polinização, fertilização e desenvolvimento do embrião. Apesar de se tratar de um evento crucial para a obtenção de produtos agrícolas e sobrevivência das espécies vegetais, ainda muito pouco é conhecido sobre os seus mecanismos regulatórios (ver Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento).

Sabe-se que as atividades das giberelinas e das auxinas representam os estímulos principais na indução do estabelecimento do fruto. Os teores endógenos de ambos os hormônios aumentam nos ovários após a fertilização, e o emprego de tratamentos exógenos ou por transformação genética que proporcionam o aumento endógeno desses hormônios levam, em muitas espécies, ao desenvolvimento de frutos partenocárpicos (frutos formados sem polinização e, portanto, sem sementes). Além disso, os teores desses hormônios são elevados nos ovários de muitos mutantes em que o estabelecimento do fruto ocorre mesmo na ausência da polinização.

Ao contrário da auxina, que parece ter um papel fundamental na organização inicial do gineceu, as giberelinas são necessárias em uma etapa posterior, durante o alongamento do fruto. Análises de mutantes de síntese ou percepção de giberelinas dão evidências dessa participação de AG durante o alongamento de frutos. Os mutantes *gal-3* de *Arabidopsis* não apresentam a formação de frutos após a polinização devido à deficiência severa na síntese de giberelinas causada pela mutação do gene *GAI*, codificante para a enzima CPS. Em contrapartida, o desenvolvimento do

fruto ocorre em outros mutantes que apresentam teores ligeiramente mais elevados de giberelinas bioativas, no entanto, o alongamento celular é anormal.

Após a fertilização de plantas de *Arabidopsis* do tipo selvagem, o desenvolvimento do fruto ocorre com divisão e expansão longitudinal de suas células. O desenvolvimento inicial dos frutos é igualmente afetado em mutantes *gai* insensíveis às giberelinas. *GAI* representa, como apresentado anteriormente, uma das proteínas DELLA de *Arabidopsis* que é conhecida por reprimir o crescimento na ausência de giberelinas. A mutação *gai* causa uma proteína *GAI* mutante que possui uma sensibilidade reduzida às giberelinas, causando um desequilíbrio na regulação das respostas às giberelinas por desrepressão gênica. Apesar de os teores de giberelinas serem elevados, as plantas *gai* possuem um fenótipo similar aos mutantes deficientes na biossíntese de AG, com frutos apresentando morfologia anormal devido à redução na divisão celular e incremento na expansão celular.

Foi verificado que apesar de os frutos partenocárpicos de *Arabidopsis* tratados com apenas uma classe de reguladores de crescimento vegetal (giberelina, auxina ou citocinina) não atingirem o tamanho equivalente ao fruto polinizado, aqueles tratados com giberelina e citocinina ou giberelina e auxina alongaram-se tanto quanto o fruto polinizado. Esses estudos sugerem um conjunto complexo de interações hormonais ocorrendo durante o desenvolvimento normal do fruto. De maneira interessante, entre os frutos partenocárpicos tratados com apenas um regulador de crescimento, aqueles tratados com AG₃ apresentaram o desenvolvimento mais próximo dos frutos polinizados (Fig. 11.20).

Em alguns exemplos práticos de interesse agrônomo ocorre uma acentuada queda de frutos depois da polinização, podendo as auxinas estimular a fixação e o crescimento destes (ver Cap. 9, Auxinas). Contudo, nem todas as espécies respondem favora-

velmente às auxinas, e, nesses casos, esses efeitos ocorrem como resposta à aplicação de AG. Assim acontece com a macieira (*Malus domestica*), na qual a aplicação de uma citocinina, a benziladenina, em combinação com o AG₄ + AG₇ promove um maior crescimento longitudinal dos frutos, melhorando assim a forma destes.

Outro exemplo interessante ocorre com *Vitis vinifera*, cv. Itália, na qual a pulverização dos cachos em pós-floração com 10 ou 20 mg/L de AG₃ permite o alongamento da ráquis e o raleio de frutos (menor número de flores polinizadas tendo seus ovários se desenvolvendo em frutos), possibilitando a obtenção de cachos mais sadios e com bagas mais uniformes (Guerra *et al.*, 1981). Além disso, foi observado que esse tratamento induz a apirenia parcial ou total (frutos com poucas sementes ou nenhuma), atributo esse desejável em uvas de mesa.

Superação da dormência em embriões somáticos e gemas

Na cultura de tecidos vegetais, a rota embriogênica somática freqüentemente gera embriões somáticos que apresentam baixa taxa de germinação, para os quais o emprego de AG₃ no meio de cultura pode promover níveis adequados de conversão em plântulas. Esse é o caso da frutífera 'goiabeira serrana' (*Acca sellowiana*), mirtácea nativa dos campos de altitude do sul do Brasil e que se encontra em processo de domesticação. Embriões somáticos com baixa taxa de germinação foram inoculados em tubos de ensaio contendo 2,0 μM de AG₃ e mostraram 100% de germinação em comparação com valores de 50% de germinação observados para embriões somáticos cultivados na ausência do AG₃ (Guerra *et al.*, 1997).

Os efeitos das giberelinas na superação da dormência de gemas de espécies com exigência de frio também têm sido relatados. Plantas de azaléia (*Rhododendron pulchrum* e *R. scabrum*), pulverizadas apenas com água, demoraram 60 dias para quebrar essa dormência. O incremento médio mensal do comprimento das gemas florais foi de 0,91 cm em resposta ao AG₃, em comparação com o incremento médio de 0,32 cm para o controle. Assim, essa giberelina foi efetiva em aumentar a taxa de crescimento das gemas florais e antecipar a floração, induzindo a antese 10 dias antes das plantas não tratadas.

APLICAÇÕES COMERCIAIS

A duração em pós-colheita de folhagens ornamentais é atributo importante para o mercado de plantas ornamentais. Em muitos casos, a aplicação de AG em plantas folhosas tem permitido aumentar consideravelmente o tempo em que as folhas mantêm a coloração verde após o corte. Folhas de *Zantedeschia aethiopica* cortadas e imersas em uma solução de 1 mM de AG₃ por 24 horas apresentaram uma longevidade média de 39 dias em comparação com a duração de 29 dias para as folhas imersas apenas em água. Nesse experimento, mostrou-se também que a aplicação de 1,0 mM de citocinina benziladenina resultou em uma vida média de

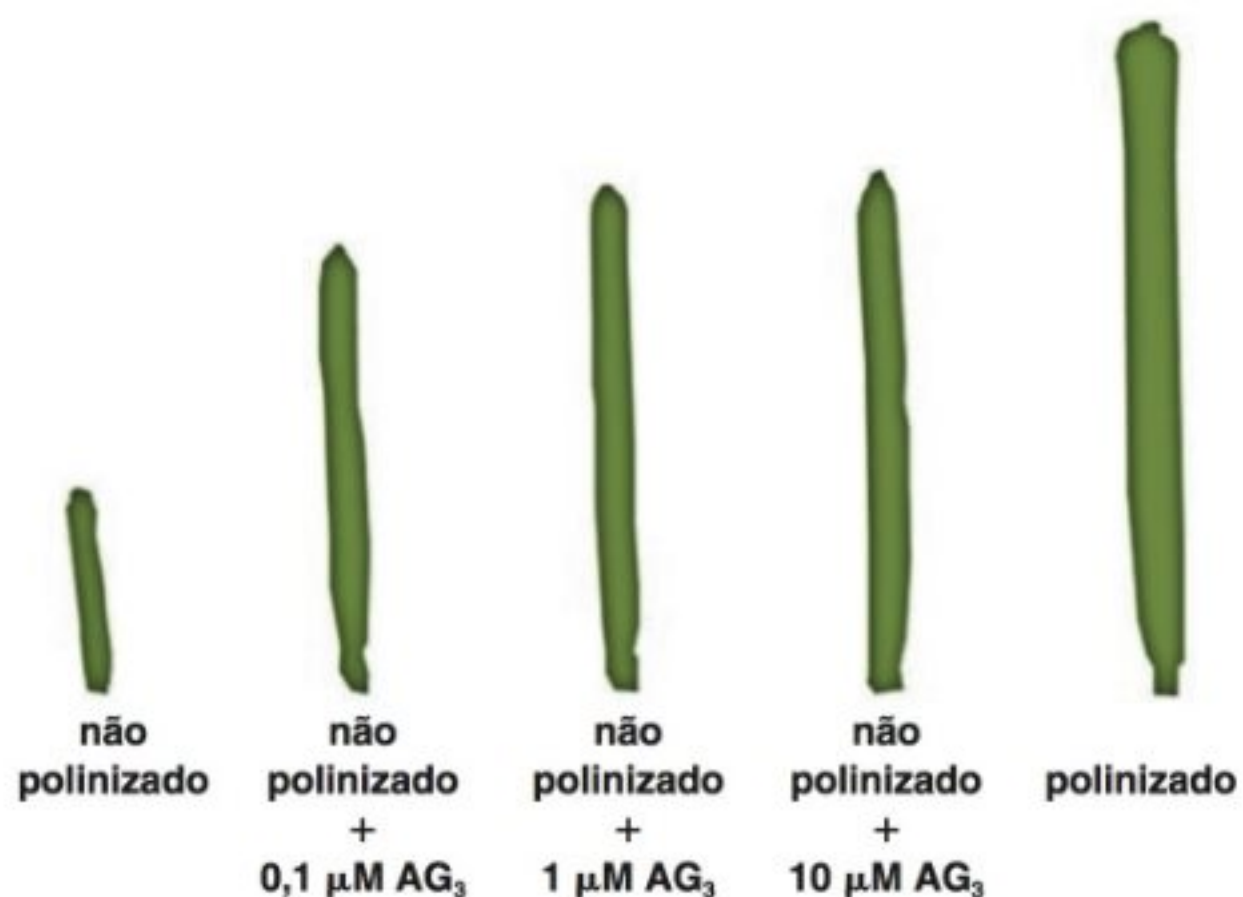


FIGURA 11.20

Efeito da aplicação de diferentes concentrações de AG₃ na indução do alongamento do fruto de *Arabidopsis* sem a fertilização. Os frutos resultantes desses tratamentos são partenocárpicos. (Baseada em Vivian-Smith and Koltunow, 1999.)

pós-colheita de apenas 17 dias, tempo esse inferior àquele observado para as folhas-controle.

O AG₃ aplicado em frutas de laranja cv. Valência retém a coloração verde da casca. O pH 3 da solução foi o que promoveu a maior retenção da coloração verde nas frutas, indicando assim que pHs mais ácidos favorecem a absorção do AG pelas plantas. Foi observado também que o AG atrasou o fenômeno do reverdecimento, o qual ocorre quando as temperaturas se tornam mais elevadas (Casagrande Jr. *et al.*, 1999). Assim, em termos comerciais e industriais, a aplicação do AG₃ permite o processamento da fruta em um período mais longo, já que o tempo de colheita pode ser expandido. Além disso, na indústria citrícola, muitas desordens podem ser corrigidas com a aplicação de giberelinas, como manchas e ferrugem, porque estas induzem uma textura mais compacta do albedo, além de poderem corrigir parcialmente o enrugamento do exocarpo. Para a limeira ácida 'Tahiti', principal variedade que substitui os limões verdadeiros no Brasil, a manutenção da cor verde é atributo importante para o mercado e consumo. Contudo, a degradação da clorofila e a síntese de carotenóides evoluem durante a comercialização e culminam com o desverdecimento da fruta. A aplicação de AG em pós-colheita nas concentrações de 10 a 160 mg/L, associada à aplicação de cera, foi eficiente para a manutenção da cor verde da casca dos frutos armazenados por 45 dias a 25°C.

Aplicações de produtos comerciais à base de giberelinas podem estender o período de produção, permitindo aos produtores programar a colheita e obter melhores preços. Assim, estudos dos efeitos do AG₃ sobre a maturação dos frutos das tangerineiras 'Ponkan' (*Citrus reticulata*) e 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa*) evidenciaram que aplicações de 20 a 60 mg/L de AG₃ no início da mudança de cor dos frutos permitiram mantê-los verdes por um período maior de tempo, sem alterar as características físico-químicas do suco. Na videira, a aplicação do AG, juntamente com o anelamento dos ramos, promoveu aumento no peso, no comprimento e largura das bagas do cultivar da uva de mesa Maria.

REFERÊNCIAS

- Casagrande Jr. JG, Fachinello JC, Faria JLC. O pH da calda de aplicação e a absorção de ácido giberélico por frutas de laranja cv. 'Valência'. *Sci Agri*. 1999; 56:933-938.
- Guerra MP, Barcellos FM, Koller OC. Influência do ácido giberélico, aplicado em floração e pós-floração sobre as características do cacho da videira Itália (*Vitis vinifera* L.). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 6. Recife, Anais... Recife, SBF, v4, 1981; pp 1279-1286.
- Guerra MP, Pescador R, Dal Vesco LL, Nodari RO, Ducroquet JP. *In vitro* morphogenesis in *Feijoa sellowiana*: somatic embryogenesis and plant regeneration. *Acta Horticulturae*, 1997; 452:27-36.
- Hedden P, Phillips AL. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends in Plant Science*. 2000; 5(12):523-530.
- Jacobsen JV, Gubler F, Chandler PM. Gibberellin and abscisic acid in germinating cereals. In: Davies PJ. (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer, Boston, 1995; pp 246-271.
- Lenton JR, Appleford NEJ, Croker SJ. Gibberellin and α -amilase gene expression in germinating wheat grains. *Plant Growth Regulation*, 1994; 15:261-270.
- Nakajima M, Shimada A, Takashi Y, Kim YC, Park SH, Ueguchi-Tanaka M, Suzuki H, Katoh E, Iuchi S, Kobayashi M *et al.* Identification and characterization of *Arabidopsis* gibberellin receptors. *Plant Journal*, 2006; 46:880-889.
- Sauter M, Kende H. Gibberellin-induced growth and regulation of cell cycle in deepwater rice. *Plant*, 1992; 188:362-368.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, 1998; 792p.
- Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Nakajima M, Itoh H, Katoh E, Kobayashi M, Chow TY, Hsing YI, Kitano H, Yamaguchi I, Matsuoka M. GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature*, 2005; 437:693-698.
- Ueguchi-Tanaka WM, Nakajima M, Katoh E, Ohmiya H, Asano K, Saji S, Hongyu X, Ashikari M, Kitano H, Yamaguchi I, Matsuoka M. Molecular interactions of a soluble gibberellin receptor, GID1, with a rice DELLA protein, SLR1, and gibberellin. *The Plant Cell*, 2007; 19:2140-2155.
- Vivian-Smith A, Koltunow AM. Genetic analysis of growth-regulator-induced parthenocarpy in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 1999; 121:437-451.
- Weiss D, Ori N. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant Physiology*, 2007; 144:1240-1246.

Ácido Abscísico

Eliane Stacciarini-Seraphin e Luciano Freschi

INTRODUÇÃO

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio vegetal que regula vários processos no ciclo de vida das plantas. Envolvido nas respostas a estresses ambientais, tais como a baixa disponibilidade de água, temperatura reduzida e alta salinidade, esse hormônio também desempenha uma função importante no desenvolvimento e germinação das sementes.

Sob condições ambientais desfavoráveis, o ABA regula o grau de abertura dos estômatos, reduzindo a perda de água por transpiração. Nas sementes, esse hormônio promove o acúmulo de proteínas e lipídios de reserva, a aquisição de tolerância à dessecação, além de inibir a germinação precoce do embrião em frutos ainda conectados à planta-mãe (*viviparidade*). Essas respostas em vários processos (*pleiotrópicas*) são, em geral, refletidas em padrões diferenciais de expressão de genes.

O presente capítulo não pretende esgotar o assunto referente ao ácido abscísico, mas sim enfatizar os principais aspectos fisiológicos, bioquímicos e genéticos desse hormônio vegetal.

HISTÓRICO E DESCOBERTA DO ABA

O hormônio vegetal ácido abscísico (Fig. 12.1), cuja descoberta ocorreu na década de 1960, foi inicialmente considerado um inibidor de crescimento e promotor de dormência de gemas. Atualmente, sabe-se que o ABA, juntamente com os demais hormônios vegetais, desempenha múltiplas funções durante o ciclo de vida das plantas. Pesquisas recentes revelam que o ABA pode agir no nível molecular, celular e da planta como um todo, transformando em respostas biológicas de proteção os efeitos exercidos pelo ambiente, especialmente a baixa disponibilidade hídrica, a alta salinidade e as temperaturas reduzidas.

Antes da década de 1940, já eram conhecidos os efeitos dos extratos vegetais na promoção da dormência em gemas e

sementes. Após 10 anos, verificou-se a presença de uma substância, denominada inibidor- β , inibitória do crescimento de coleótilos, que, por sua vez, é promovido pela auxina. O inibidor- β também foi identificado na primeira gema lateral de folhas de feijão e em gemas de tubérculos de batata, sugerindo seu envolvimento na dominância apical e na dormência. Outros órgãos vegetais, como frutos jovens de algodão e tremoço e caules de maçã e ameixa, também apresentavam uma substância que inibia o crescimento e/ou provocava a abscisão. Qualquer uma dessas pesquisas poderia ter conduzido à purificação e identificação do ácido abscísico; entretanto, somente três delas resultaram no isolamento e identificação desse hormônio. Essas pesquisas foram publicadas no início da década de 1960 e estão descritas resumidamente a seguir.

Nos Estados Unidos, os trabalhos de Addicott e cols. resultaram no isolamento e cristalização de uma substância promotora da abscisão de frutos jovens de *Gossypium* (algodão). Tratando-se de uma substância até então com propriedades físicas e químicas desconhecidas, ela foi denominada de abscisina II, em reconhecimento ao seu efeito promotor na abscisão. Na mesma época, Wareing e colaboradores, na Inglaterra, correlacionaram a dormência de gemas na planta lenhosa *Acer pseudoplatanus* Falk (bordo) às alterações sazonais nos níveis de inibidores, denominando o composto responsável por esse efeito como dormina. O isolamento e a cristalização da dormina evidenciaram propriedades físicas e químicas idênticas às da abscisina II. Um terceiro grupo de pesquisadores, liderados por Van Steveninck, na Nova Zelândia e, posteriormente, na Inglaterra, verificou que frutos em desenvolvimento de *Lupinus luteus* L. (tremoço) produziam alguma substância responsável pela abscisão de flores e frutos jovens localizados em posição apical na inflorescência. Essa substância, quando aplicada em coleótilos, apresentava propriedades semelhantes ao inibidor- β , e, através de seu isolamento

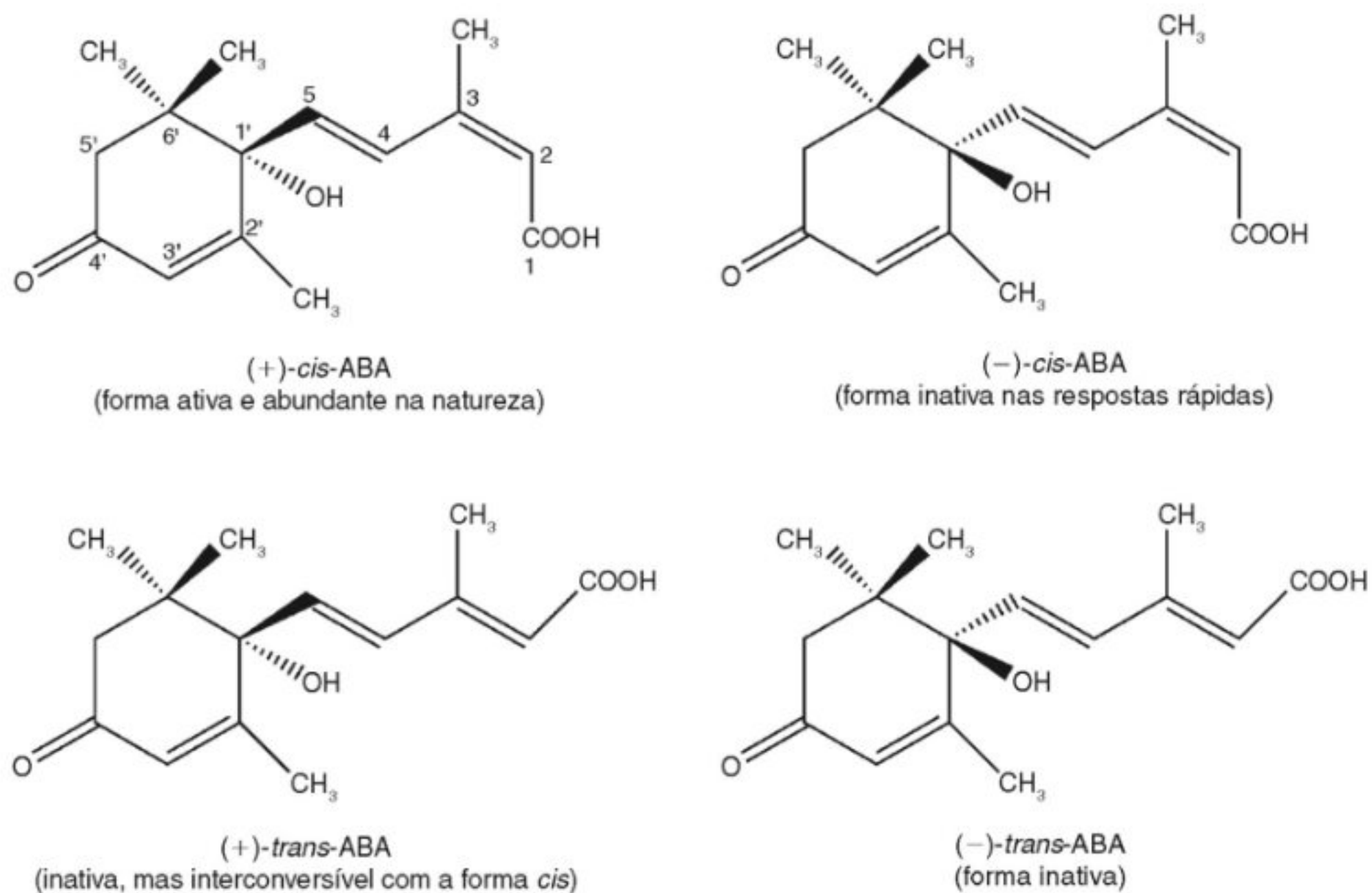


FIGURA 12.1

Estrutura química dos isômeros e enantiômeros do ácido abscísico e o sistema de numeração dos carbonos na molécula do (+)-*cis*-ABA.

e purificação, os autores, novamente, observaram propriedades idênticas às da abscisina II.

Abscisina II, dormina e acelerador de abscisão representavam um mesmo composto, sendo necessária uma denominação comum para tal substância. Em 1967, os grupos de pesquisadores envolvidos nas investigações estabeleceram o nome ácido abscísico e ABA como sua abreviação. Atualmente, alguns fisiologistas consideram esse nome inadequado, especialmente porque o ABA não é tão ativo na promoção da abscisão como se pensava inicialmente. Entretanto, o nome “ácido abscísico” está consagrado pelo uso.

Desde sua descoberta até a presente data, foram editados dois livros específicos sobre o ácido abscísico (Addicott, 1983; Davies & Jones, 1991), e há uma crescente publicação de capítulos e artigos de revisão e/ou investigação em torno do assunto.

OCORRÊNCIA DO ABA NAS PLANTAS

O ácido abscísico está presente em todas as plantas vasculares, ocorrendo também em alguns musgos, algas verdes e fungos. Esse hormônio foi identificado em alguns mamíferos, tendo sido, entretanto, atribuído à alimentação dos animais e não à síntese nesses organismos.

Presente em praticamente todas as células vivas do vegetal, o ABA pode ser encontrado desde o ápice caulinar até o radicular, assim como nas seivas do xilema e do floema e exsudato de nectários. Em nível celular, o ácido abscísico também é amplamente distribuído, estando presente no citossol, cloroplasto, vacúolo e apoplasto.

A exemplo do que ocorre com outros hormônios vegetais, a concentração endógena de ácido abscísico é, geralmente, bastante baixa e determinada pelo balanço dinâmico entre biosíntese, inativação, degradação, transporte e compartimentação. Esses processos, por sua vez, são regulados pela fase de desenvolvimento da planta, por fatores ambientais e pela interação com outros hormônios vegetais.

Entretanto, uma elevação considerável na concentração endógena de ABA é observada em tecidos vegetativos submetidos a estresses ambientais, assim como na semente durante a maturação. Sob condições ambientais favoráveis, a concentração de ABA nas folhas e raízes é de alguns ng gMF^{-1} , sendo substancialmente elevada quando as plantas são submetidas a estresses, especialmente de déficit hídrico. O papel fisiológico do ácido abscísico na proteção a esse tipo de estresse ocorre principalmente através da promoção do fechamento estomático, reduzindo a perda de água.

Durante o desenvolvimento de sementes, a concentração endógena de ABA nesses órgãos é geralmente superior àquela encontrada em tecidos vegetativos, atingindo valores da ordem de $\mu\text{g gMF}^{-1}$. O ABA está envolvido no acúmulo de proteínas e lipídios de reserva, na aquisição de tolerância à dessecação, na inibição da germinação precoce e na imposição de dormência primária.

Mutantes deficientes e insensíveis ao ABA

Vários mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA foram identificados em plantas vasculares com anomalias no desenvolvimento ou no comportamento fisiológico, tais como a viviparidade

e a ausência de dormência e murchamento, mesmo sob estresse hídrico moderado. Enquanto nos mutantes deficientes em ABA essas anomalias podem ser revertidas ao tipo normal (selvagem) após tratamento com ácido abscísico, a aplicação desse hormônio não tem efeito nos mutantes insensíveis a esse hormônio.

Dentre os mutantes mais bem caracterizados estão os *viviparos* (*vp*) de milho (*Zea mays*); *flacca* (*flc*), *sitiens* (*sit*) e *notabilis* (*not*), de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *aba1* a *aba3* e *abi1* a *abi5* de *Arabidopsis thaliana*; *droopy* de batata (*Solanum phureja*); *wilty* de ervilha (*Pisum sativum*); *aba1* e *aba2* de *Nicotiana plumbaginifolia*; e *nar-2a* e *cool* de cevada (*Hordeum vulgare*). As designações *aba* e *abi* são usadas para mutantes deficientes e insensíveis ao ABA, respectivamente.

Esses mutantes têm contribuído significativamente para o progresso das pesquisas envolvendo transdução de sinais, biossíntese e efeitos biológicos do ABA. Revisões sobre mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA podem ser encontradas em Taylor (1991), Thomas *et al.* (1997), Leung & Giraudat (1998), Finkelstein *et al.* (2002).

ESTRUTURA, PRINCIPAIS FORMAS E ATIVIDADE DO ABA

O ácido abscísico é um composto com 15 carbonos, pertencente à classe dos terpenóides, cuja molécula apresenta alta semelhança estrutural com a porção terminal das xantofilas.

O ABA pode apresentar-se na configuração *cis* ou *trans* dependendo da orientação do grupo carboxila ligado ao carbono 2 de sua cadeia lateral. O isômero *cis*-ABA é a única forma que apresenta atividade biológica e corresponde à quase totalidade do ABA produzido pelos tecidos vegetais. O isômero *trans*-ABA, por sua vez, é inativo, mas pode ser convertido na forma *cis* (ativa) por isomerização espontânea na presença de luz (Fig. 12.1).

Além disso, o ABA apresenta um carbono assimétrico na posição 1' do anel, conferindo falta de simetria molecular e garantindo sua atividade óptica, isto é, a capacidade de desviar o plano de uma luz polarizada. A forma natural do hormônio é positiva (+), porque o desvio da luz ocorre no sentido horário.

Os dois enantiômeros, (+)-ABA (natural) e (-)-ABA (sintético), apresentam diferenças marcantes em termos de atividade biológica, taxas de catabolismo e produtos de degradação. O (+)-ABA, por exemplo, é a única forma ativa em respostas de curta duração, tais como o fechamento estomático. Por outro lado, em respostas de longa duração, como na maturação de sementes, ambos os enantiômeros são ativos. De modo geral, a forma (-)-ABA apresenta menores taxas de degradação, permanecendo na planta por períodos mais prolongados. A interconversão dos enantiômeros (-)-ABA e (+)-ABA não ocorre em tecidos vegetais.

O ABA disponível comercialmente pode estar na forma pura [(+)-ABA], obtida a partir da cultura de fungos, ou em mistura racêmica [(±)-ABA], ou seja, uma mistura com partes aproximadamente iguais de ambos os enantiômeros. Assim sendo, é importante especificar a forma do ABA usada experimentalmente.

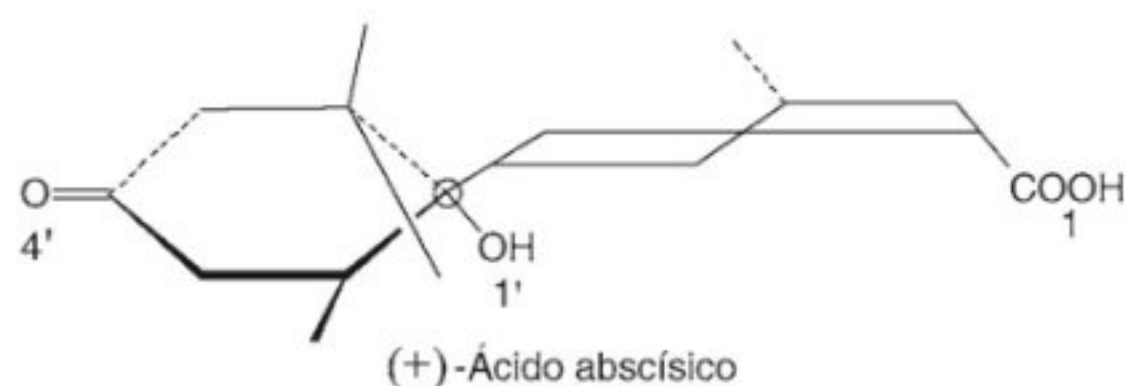


FIGURA 12.2

Arranjo estrutural da molécula do (+)-*cis*-ABA para a ligação ao receptor, destacando a importância dos grupos cetona (C4'), hidroxílico (C1') e carboxílico (C1). (Modificada de Ho, 1983.)

Ao contrário das giberelinas e citocininas que apresentam um grande número de compostos naturais com atividade biológica, a classe hormonal do ácido abscísico é composta basicamente de um único composto ativo de ocorrência natural, o *cis*-ABA. Alguns produtos da degradação do ABA, como o ácido faseico (PA) e o 7'-hidroxi ABA, também apresentam atividade biológica; contudo, ainda não é clara a relação entre a síntese desses compostos e as respostas observadas nos vegetais.

Estudos têm demonstrado que modificações estruturais na molécula de ABA normalmente resultam na redução ou perda de sua atividade. Enquanto a presença dos grupos carboxílico, hidroxílico e da configuração C4'-cetona é essencial para a ligação ao receptor e atividade biológica do ABA (Fig. 12.2), a nitrila e o álcool, quando presentes no C1, apresentam baixa atividade. O éster metílico do ABA, por exemplo, é inativo nas respostas de curta duração, como nos bioensaios de inibição de crescimento e fechamento estomático. Porém, nas respostas de longa duração, esse composto pode apresentar atividade, possivelmente devido à liberação do ABA livre.

BIOSSÍNTESE E INATIVAÇÃO DO ABA

Locais de biossíntese

Postula-se que a síntese de ABA possa ocorrer em praticamente todos os tecidos vivos da planta. Os precursores necessários à biossíntese do ABA estão presentes nos cloroplastos localizados em tecidos fotossintetizantes, assim como nos cromoplastos, leucoplastos e proplastídeos distribuídos nos frutos, embriões de sementes, raízes e outros órgãos da planta. Além disso, os metabólitos do ABA foram identificados em praticamente todos os órgãos das plantas, incluindo folhas, caules, raízes, sementes e frutos. Porém, como esses compostos foram também observados no xilema e no floema, sua presença não indica necessariamente a síntese em determinado órgão.

De modo geral, folhas jovens apresentam níveis de ABA mais elevados, porém menor capacidade de sintetizar o hormônio, quando comparadas às folhas adultas. Supõe-se que a maior parte do ABA presente nas folhas jovens seria importada das folhas adultas através do floema.

Os tecidos vasculares têm sido caracterizados como importantes locais de biossíntese do ABA, uma vez que as principais

enzimas envolvidas na produção desse hormônio encontram-se presentes em abundância nas células companheiras do floema e células parenquimáticas do xilema.

Etapas da biossíntese

A combinação de abordagens fisiológicas, bioquímicas e genéticas tem permitido avanços consideráveis na elucidação da via biossintética do ABA nas plantas. Os compostos intermediários dessa via já estão bem caracterizados, e várias enzimas encontram-se identificadas.

Inicialmente foram propostas duas rotas possíveis para a síntese do ABA nos tecidos vegetais. Na primeira, classificada como via direta, o terpenóide de 15 carbonos farnesil pirofosfato (FPP) origina o ABA diretamente, ou através do composto intermediário xantoxina (Xan). Atualmente, sabe-se que, ao contrário do observado em fungos, essa via tem pouca importância nas plantas vasculares.

Em contrapartida, técnicas bioquímicas associadas à caracterização de vários mutantes deficientes na biossíntese de ABA demonstraram que a produção desse hormônio nas plantas ocorre preferencialmente por uma via indireta, a qual utiliza carotenóides oxigenados (xantofilas) de 40 carbonos como precursores. Dentre essas pesquisas, podemos destacar os estudos com diversos mutantes vivíparos (*vp*) de milho, cujas primeiras etapas da biossíntese de carotenóides são bloqueadas, resultando na incapacidade de sintetizar o ácido abscísico. Inibidores químicos da síntese de carotenóides, como a fluridona e a norflurazona, também resultam num menor acúmulo de ABA (Fig. 12.3). Além disso, experimentos de incorporação de $^{18}\text{O}_2$ na molécula do ABA confirmaram a síntese desse hormônio pela via indireta ao mostrarem que o isótopo marcado foi inserido no grupo carboxílico da cadeia lateral (C1) em vez de na posição 1' do anel, como ocorre nos fungos que produzem ABA pela via direta.

Didaticamente podemos dividir a via indireta de biossíntese do ABA em três etapas: (1) a síntese dos carotenóides não-oxigenados nos plastídeos; (2) a síntese e clivagem das xantofilas nos plastídeos; e (3) a síntese de ABA no citossol.

SÍNTESE DOS CAROTENÓIDES NÃO-OXIGENADOS

Os carotenóides, como os demais isoprenóides, são sintetizados nos plastídeos a partir de um precursor de 5 carbonos, o isopentenilpirofosfato (IPP). O IPP, originado pela via dependente ou independente do ácido mevalônico, sofre condensações sucessivas com outras unidades de isopreno, originando o geranyl pirofosfato (C_{10}), o farnesil pirofosfato (C_{15}) e por fim o geranylgeranyl pirofosfato (GGPP, C_{20}). Por pertencerem à via dos terpenóides, essas etapas são comuns à biossíntese das giberelinas (ver Cap. 11, Giberelinas).

Em seguida, moléculas de GGPP produzidas pela via dos terpenóides são desviadas para a via de síntese dos carotenóides não-oxigenados, a qual também ocorre nos plastídeos. Como ilustrado na Fig. 12.3, a primeira etapa dessa rota consiste na conversão de

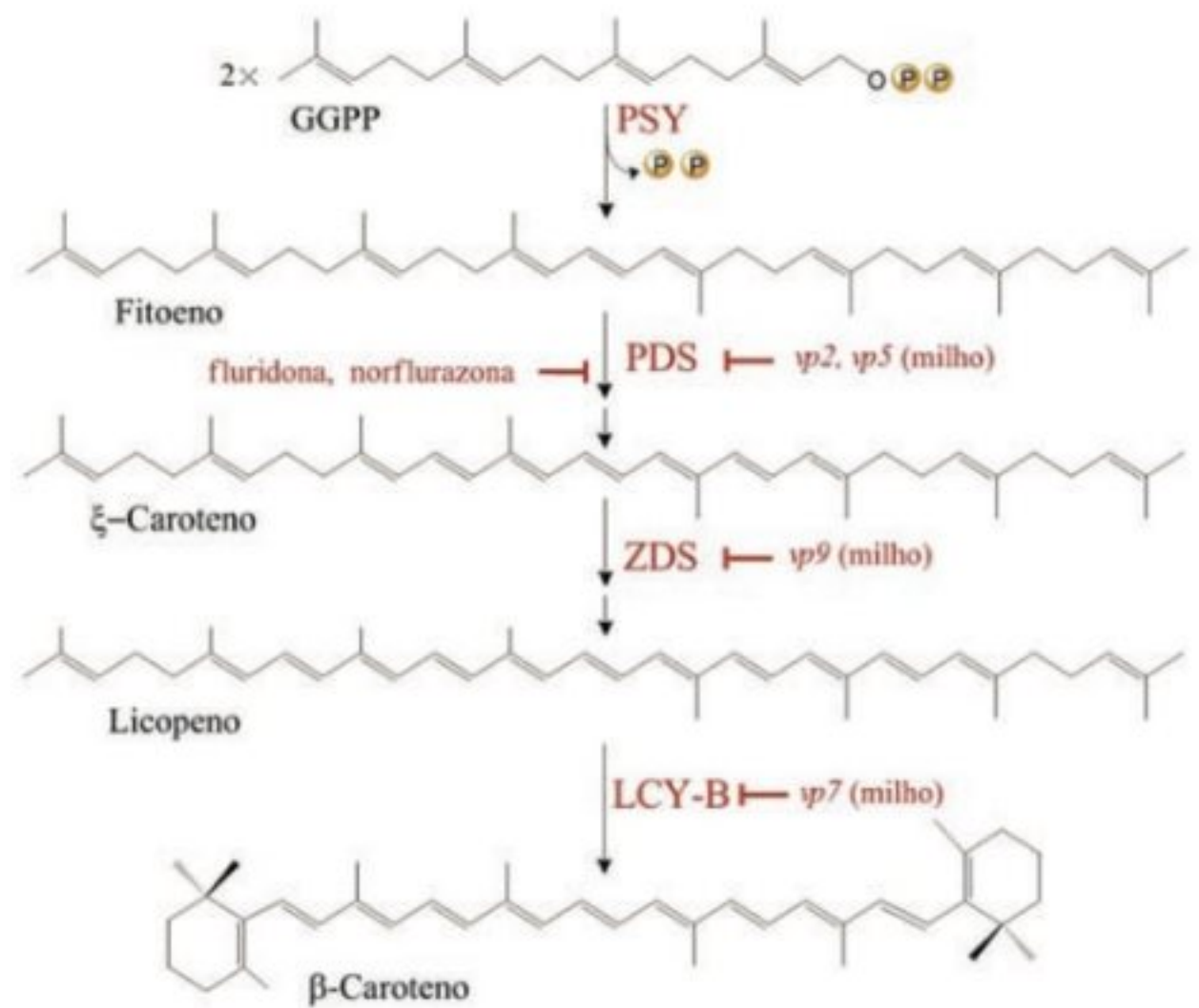


FIGURA 12.3

Principais etapas da biossíntese dos carotenóides não-oxigenados a partir do geranylgeranyl pirofosfato (GGPP), destacando a participação das enzimas sintase do fitoeno (PSY), dessaturase do fitoeno (PDS), dessaturase do ξ -caroteno (ZDS) e ciclase do licopeno (LCY-B). Alguns mutantes vivíparos (*vp*) de milho, deficientes na síntese de carotenóides e ABA, estão indicados nas etapas onde são bloqueados. Os inibidores químicos fluridona e a norflurazona impedem a dessaturação do fitoeno e, portanto, bloqueiam a síntese de carotenóides.

duas moléculas de GGPP em fitoeno (C_{40}) pela enzima sintase do fitoeno (PSY). O fitoeno sofre dessaturação (aumento da série de duplas ligações entre os carbonos), sendo convertido a ξ -caroteno na reação catalisada pela enzima dessaturase do fitoeno (PDS). O ξ -caroteno formará o licopeno, que, por sua vez, dará origem ao β -caroteno. Essas reações formam o cromóforo dos carotenóides e, portanto, transformam o fitoeno incolor em licopeno, que apresenta coloração rosa. Os mutantes de milho *vp2*, *vp5*, *vp7* e *vp9* foram particularmente importantes na elucidação dessa rota, pois são deficientes na produção de diferentes enzimas envolvidas na síntese de carotenóides (Fig. 12.3).

SÍNTESE E CLIVAGEM DAS XANTOFILAS

Ainda nos plastídeos, o β -caroteno será precursor da zeaxantina, e, a partir desta, inicia-se a síntese e clivagem das demais xantofilas (Fig. 12.4). A primeira etapa da biossíntese do ABA, a partir das xantofilas, é a conversão da zeaxantina à anteraxantina e, desta, à *trans*-violaxantina, através de duas reações com incorporação de oxigênio nos anéis epóxidos (epoxidação) catalisadas pela enzima epoxidase da zeaxantina (ZEP).

Em seguida, a *trans*-violaxantina é convertida à *trans*-neoxantina, e esta à 9'-*cis*-neoxantina. A *trans*-violaxantina também pode formar a 9'-*cis*-violaxantina, e esta originar a 9'-*cis*-neoxantina (Fig. 12.4); contudo, essa via parece ser pouco importante

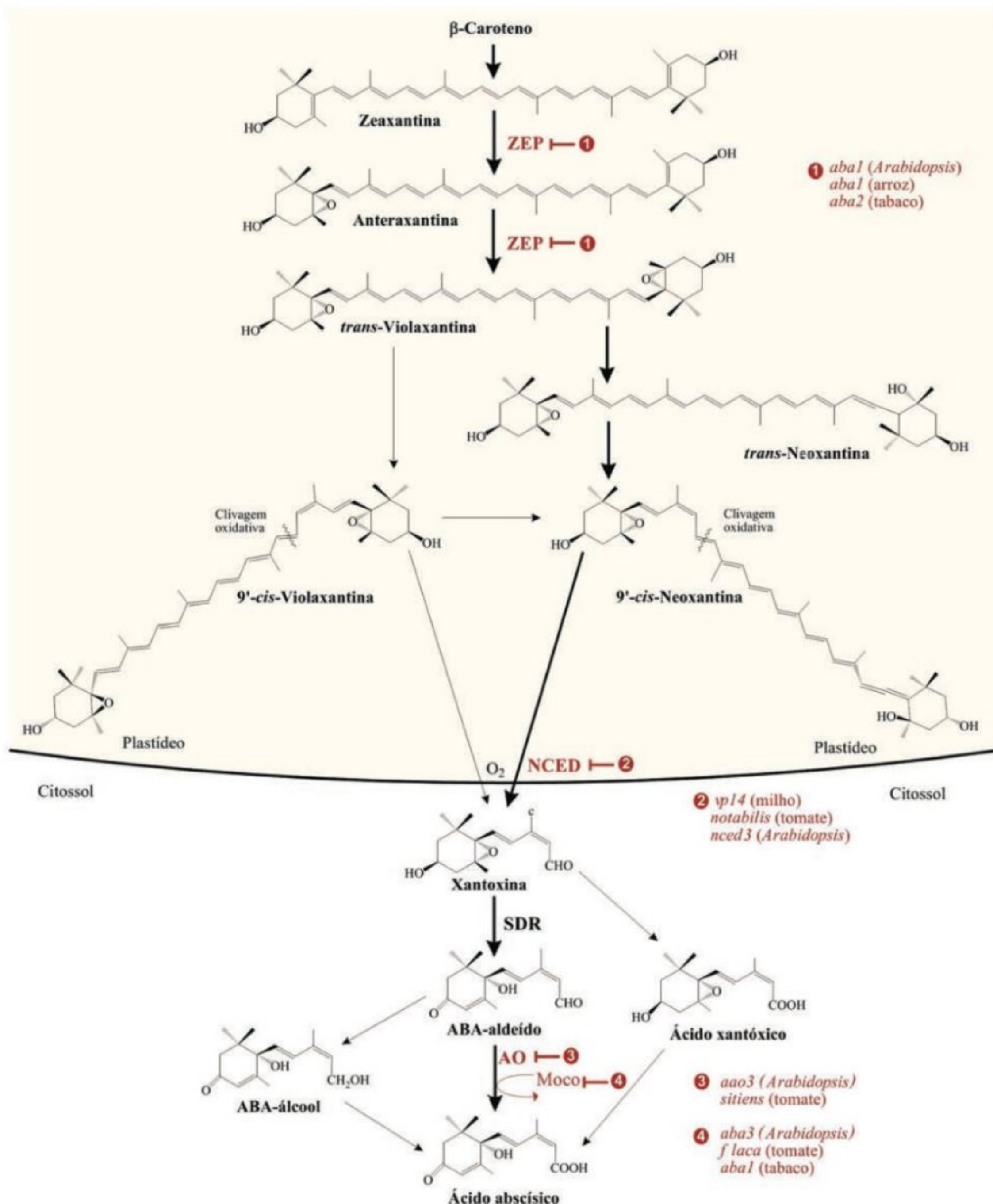


FIGURA 12.4

Biossíntese do ácido abscísico (ABA) a partir das xantofilas. Nos plastídeos, o β -caroteno é convertido a zeaxantina, e, a partir desta, inicia-se a síntese e clivagem das demais xantofilas. A clivagem oxidativa da 9'-cis-neoxantina e/ou 9'-cis-violaxantina forma a xantoxina, a qual é liberada para o citossol, onde originará ABA-aldeído e, então, ABA. A conversão da xantoxina em ABA também pode ocorrer por rotas alternativas que envolvem os intermediários ABA-álcool e ácido xantóxico, porém essas vias são menos freqüentes nas plantas. Alguns mutantes, deficientes na síntese de ABA, estão indicados nas etapas onde são bloqueados. ZEP: epoxidase da zeaxantina; NCED: dioxigenase do 9'-cis-epoxicarotenóide; SDR: desidrogenase/reduzase de cadeia curta; AO: oxidase do ABA-aldeído; Moco: co-fator de molibdênio.

nas plantas. A clivagem oxidativa da 9'-*cis*-neoxantina e/ou 9'-*cis*-violaxantina, catalisada pela dioxigenase do 9'-*cis*-epoxicarotenóide (NCED), forma a xantoxina (Xan), um epóxido de 15 carbonos semelhante ao ABA, além de um subproduto de 25 carbonos (Fig. 12.4). Estudos têm demonstrado que, sob estresse hídrico, a 9'-*cis*-neoxantina é o principal substrato utilizado pela NCED para o aumento na produção de ABA.

Os mutantes *vp14* de milho e *not* de tomate são deficientes em ABA, pois não realizam a clivagem oxidativa necessária para formação da xantoxina, devido ao bloqueio da NCED. Essa enzima é considerada fundamental na regulação da biossíntese do ABA nas plantas superiores. De modo geral, os teores de transcritos e atividade da NCED aumentam rapidamente em condições de estresse hídrico, promovendo o acúmulo de ABA e, conseqüentemente, induzindo as respostas de proteção à seca.

SÍNTESE DO ABA NO CITOSSOL

As últimas etapas da síntese do ABA, a partir da xantoxina, ocorrem no citossol, utilizando predominantemente uma via que possui o ABA-aldeído (ABAld) como intermediário. Nessa via principal, a enzima desidrogenase/reductase de cadeia curta (SDR) promove a conversão da xantoxina a ABA-aldeído, que, por sua vez, será oxidado a ABA. Essa última reação é catalisada pela enzima oxidase do ABA-aldeído (AO), que exige um co-fator de molibdênio (Fig. 12.4).

Em alguns mutantes, tais como *flc* de tomate, *aba3* de *Arabidopsis*, *aba1* de *Nicotiana*, a síntese de ABA a partir do ABA-aldeído é bloqueada devido à inatividade da AO por deficiência

na síntese do co-fator. Nesses mutantes, a xantoxina é convertida em ABA por uma via alternativa envolvendo a formação de ABA-álcool (Fig. 12.4). Aparentemente, essa rota alternativa tem pouca importância nas plantas que possuem níveis normais de atividade da AO.

Uma terceira via alternativa para a formação do ABA utiliza o ácido xantóxico como intermediário na conversão da xantoxina a ABA. A importância fisiológica dessa via nas plantas permanece ainda pouco estabelecida (Fig. 12.4).

Conjugação

As plantas apresentam uma capacidade elevada de metabolizar o ABA, especialmente quando mantidas na ausência de estresses ambientais. Assim como observado para as auxinas, citocininas e giberelinas, a inativação do ABA pode ocorrer tanto por conjugação quanto por degradação a outros compostos (Fig. 12.5). A preferência entre essas duas vias de inativação parece ser dependente da espécie, tipo de tecido e estágio de desenvolvimento do vegetal.

Em alguns tecidos, a conjugação do ABA com monossacarídeos parece ser o principal caminho de inativação desse hormônio. A forma mais comum de ABA conjugado é o éster glicólico do ABA (ABA-GE), no qual o grupo carboxílico (C1) encontra-se ligado covalentemente à uma molécula de glicose (Fig. 12.5). Além de modificar a atividade biológica e algumas características químicas da molécula, como a polaridade, a conjugação também altera a distribuição celular do ABA. Enquanto a forma livre do hormônio encontra-se principalmente no citossol, o ABA-GE localiza-se nos vacúolos e no apoplasto.

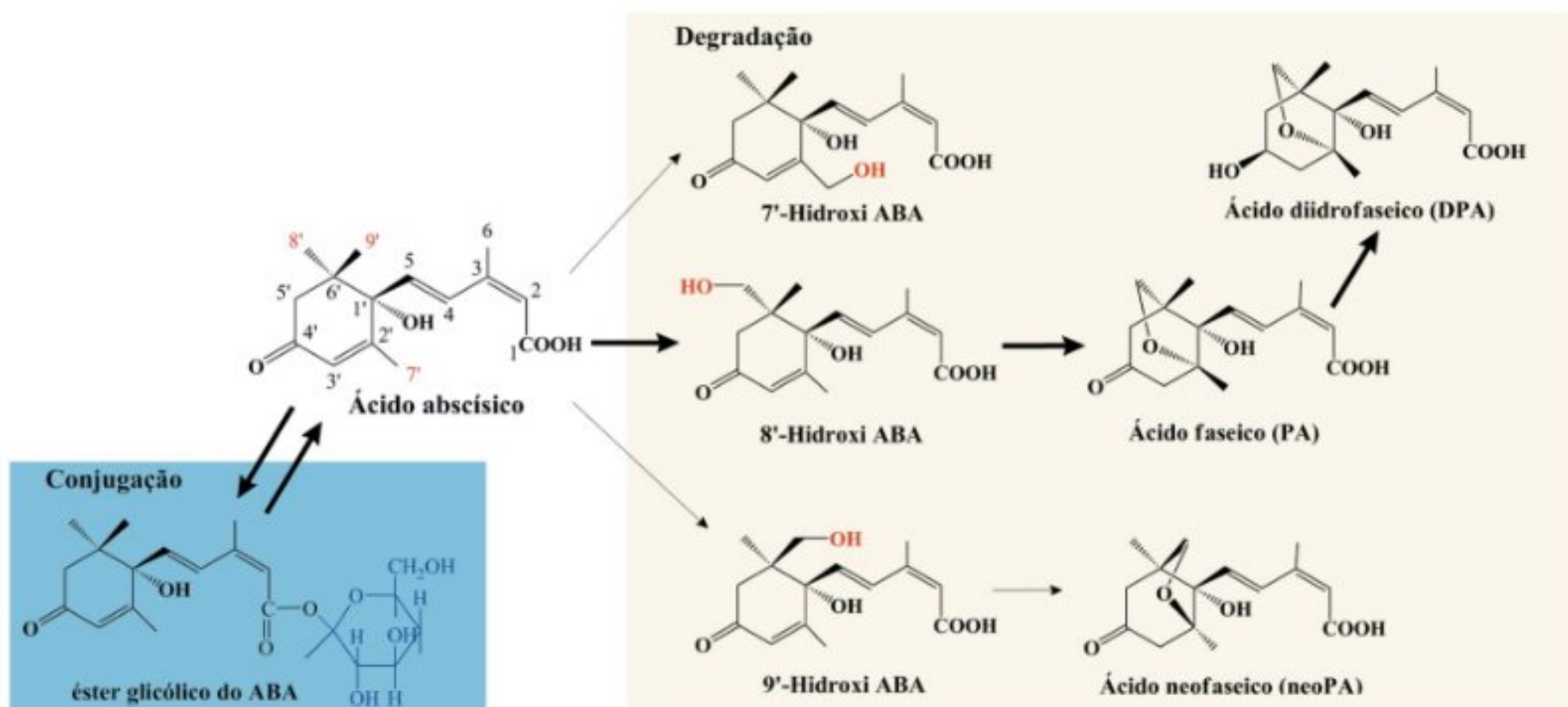


FIGURA 12.5

Principais rotas de inativação do ABA nos tecidos vegetais. A inativação do ABA pode ocorrer por meio de hidroxilações nas posições 7', 8' ou 9' do anel (indicadas em vermelho). A principal dentre essas rotas de degradação é a hidroxilação na posição 8' que leva à formação 8'-hidroxi ABA, o qual é oxidado à ácido faseico (PA) e, posteriormente, ácido diidrofaseico (DPA). Por outro lado, o ABA também pode ser inativado de forma reversível por meio da conjugação com outras moléculas. A principal molécula utilizada na conjugação do ABA é a glicose (indicada em azul) dando origem ao éster glicólico do ABA (ABA-GE).

Evidenciou-se, recentemente, que os tecidos vegetais são capazes de converter as formas conjugadas em ABA livre por meio da atividade de β -glicosídeos localizadas no retículo endoplasmático. Assim sendo, a conjugação do ABA representa uma forma de inativação reversível, podendo constituir um importante modo de estocagem e regulação dos níveis endógenos desse hormônio.

Além disso, as formas conjugadas do ABA também parecem estar envolvidas no transporte desse hormônio. Em algumas plantas, como o girassol, o transporte de ABA pelo xilema ocorre principalmente na forma de glicosídeos como o ABA-GE. Ao atingir seus locais de destino, o ABA-GE é transportado para o interior das células, onde pode ser estocado no vacúolo ou novamente convertido na forma livre do hormônio.

Degradação

Ao contrário da conjugação, o ABA pode ser inativado permanentemente por meio de hidroxilações em diversas posições do anel. O principal modo de inativação catabólica do ABA ocorre via hidroxilação na posição 8' do anel, formando um intermediário instável, o 8'-hidroxi ABA. Esse composto dá origem ao primeiro catabólito estável do hormônio, o ácido faseico (PA), que, quando oxidado, forma o ácido dihidrofaseico (DPA). Esses dois ácidos foram identificados em um grande número de espécies e representam os principais produtos do catabolismo do ABA.

A enzima 8'-hidroxilase do ABA, responsável pela formação do 8'-hidroxi ABA, é considerada um elemento chave no controle da degradação do ABA, sendo fortemente induzida pela reidratação dos tecidos após períodos de seca. Além disso, o bloqueio da atividade dessa enzima por meio de mutações resulta em um grande acúmulo de ABA nas plantas.

A hidroxilação da molécula do ABA na posição 7' do anel, formando o 7'-hidroxi ABA, é considerada uma via de degradação do ABA pouco freqüente na maioria das plantas analisadas. Por outro lado, a degradação do ABA através da formação do 9'-hidroxi ABA e ácido neofaseico (neoPA) foi descoberta apenas recentemente, e sua importância ainda não é bem estabelecida (Fig. 12.5).

Alguns produtos intermediários da degradação do ABA, tais como o 8'-hidroxi ABA, o 9'-hidroxi ABA e o ácido faseico, exercem atividade semelhante à do ABA em alguns bioensaios. Outros catabólitos, como o DPA e o neoPA, geralmente não apresentam atividade mensurável. A maioria dos catabólitos de ABA também podem sofrer conjugação com monossacarídeos.

TRANSPORTE DO ABA

O ácido abscísico é facilmente transportado pelo floema, xilema e células parenquimáticas, havendo intercâmbio entre folhas adultas, folhas jovens e raízes. Em plantas de *Lupinus* (tremoço) submetidas a estresse salino, 55% do total de ABA presente no xilema é proveniente da síntese na raiz, enquanto, nas plantas não-estressadas, esse órgão contribui apenas com 28% do teor desse hormônio. O estresse salino, comparativamente às plantas-

controle, promove um aumento de 5 e 10 vezes no transporte de ABA, respectivamente no floema e xilema.

Além do transporte através dos feixes vasculares, a distribuição do ABA também é afetada pela sua compartimentação nos tecidos vegetais. Por se tratar de um ácido fraco, a compartimentação do ABA obedece ao conceito de *aprisionamento de ânions* em meio alcalino. A molécula não dissociada lipofílica do ABA (ABAH) atravessa livremente a membrana plasmática das células. Após sua difusão, o ABAH se dissocia como ânion (ABA^-), o qual atravessa a membrana plasmática menos facilmente e, portanto, acumula-se no meio mais alcalino do citossol. Em plantas sob boas condições de hidratação o fluido do apoplasto apresenta pH em torno de 6,3, favorecendo a forma protonada ABAH. Conseqüentemente, assume-se que grande parte do hormônio presente na seiva do xilema seja absorvido e metabolizado pelas células do mesófilo foliar. Como resultado, pouco ABA atingirá as células-guardas situadas na epiderme (Fig. 12.6).

Em contrapartida, sob condições de déficit hídrico, a seiva do xilema e o fluido do apoplasto tornam-se mais alcalinos (em torno do pH 7,2), favorecendo a forma desprotonada ABA^- e diminuindo o gradiente de pH através da membrana plasmática. Com isso, uma menor quantidade de ABA penetra nas células do mesófilo e, conseqüentemente, um maior número de moléculas desse hormônio atinge as células-guardas por meio do fluxo de transpiração (Fig. 12.6).

Cabe ressaltar que durante esse processo a quantidade total de ABA na folha não é afetada, pois apenas ocorre uma redistribuição do hormônio disponível. Portanto, a dosagem do conteúdo de ABA em células individuais fornece dados valiosos quando se deseja relacionar os efeitos fisiológicos aos níveis endógenos desse hormônio.

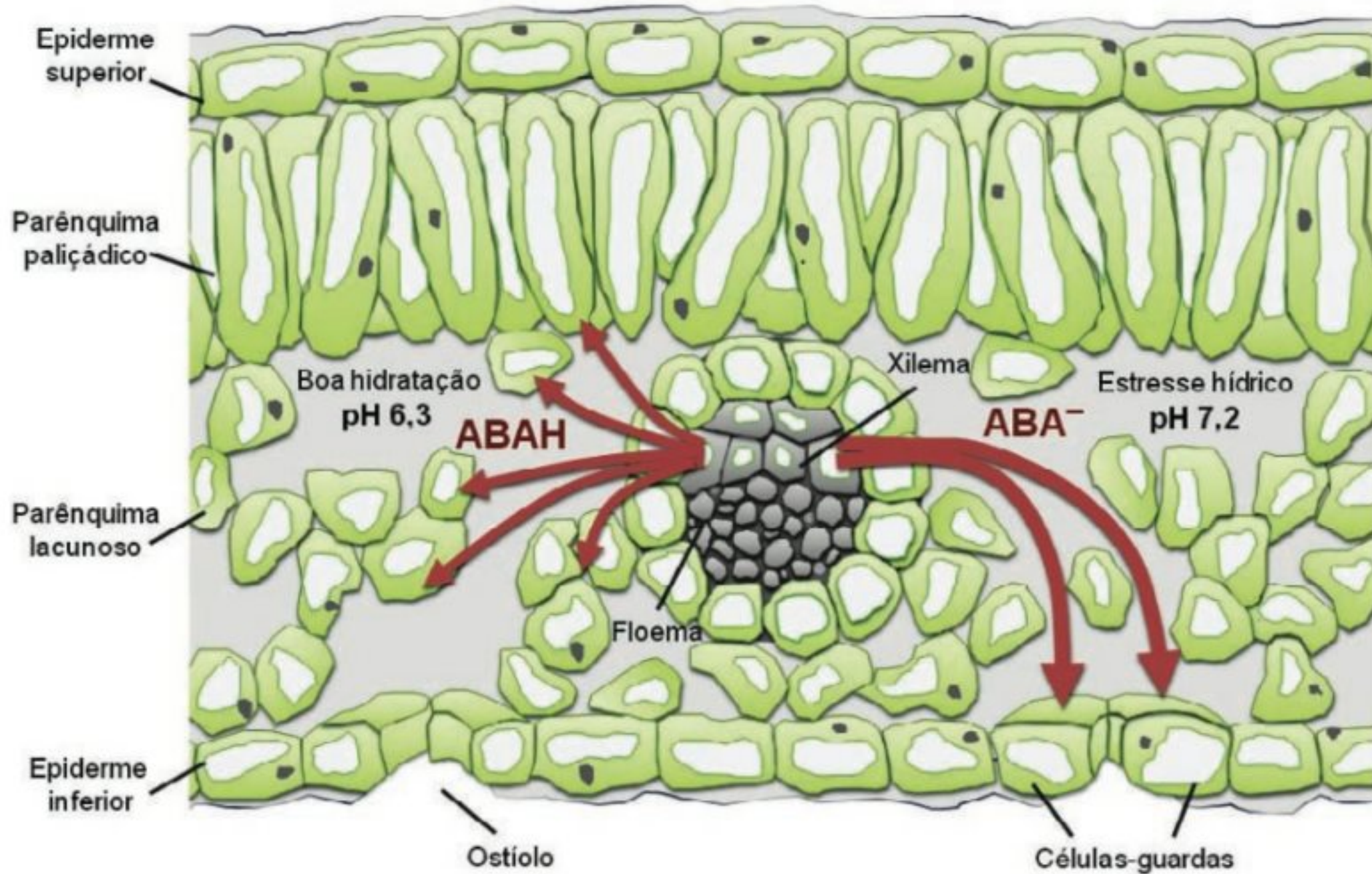
MECANISMO DE AÇÃO DO ABA

O ácido abscísico, como os outros hormônios vegetais, exerce vários efeitos fisiológicos, possivelmente através de mecanismos de ação diferentes em cada tipo de tecido vegetal.

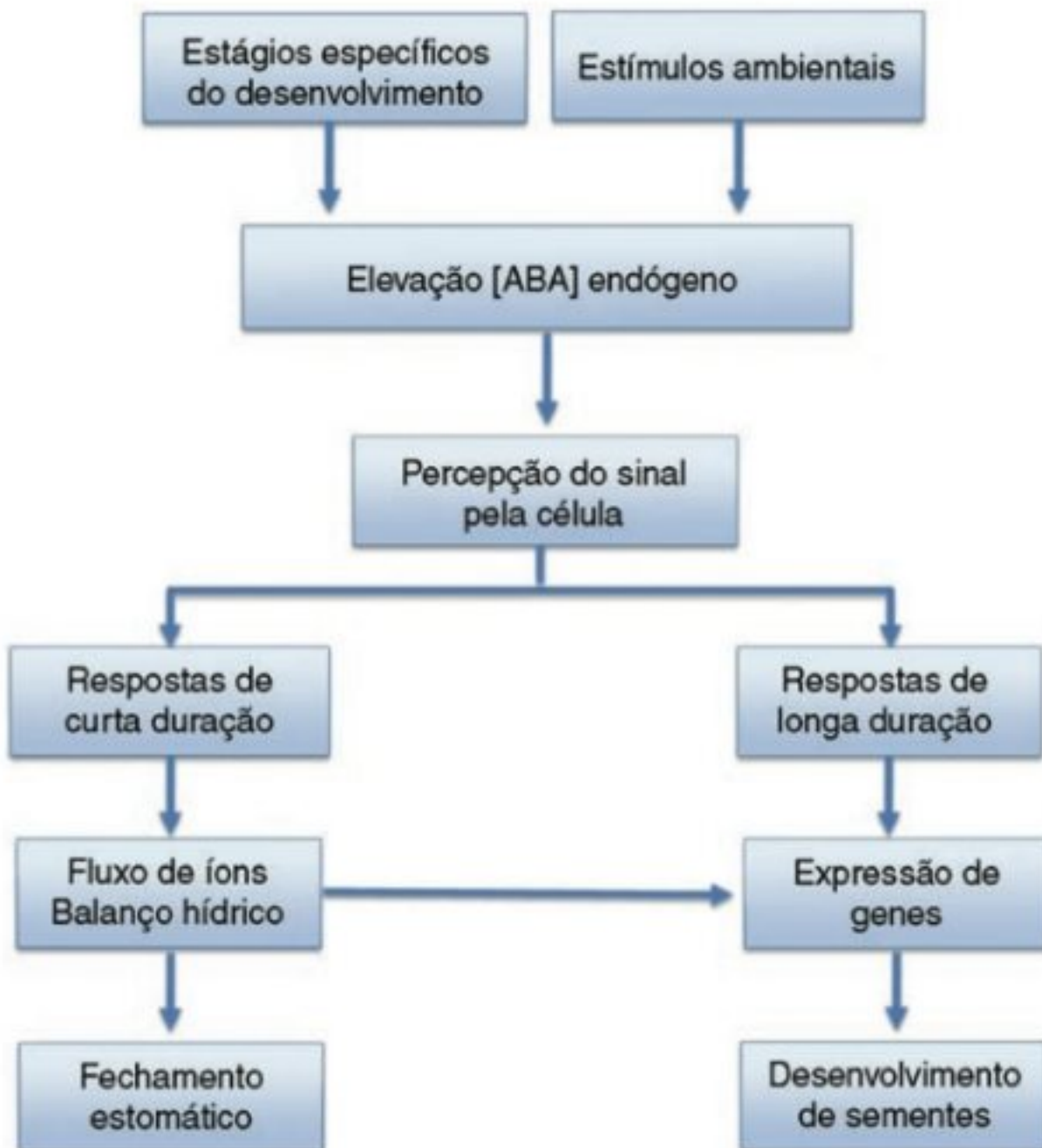
De acordo com o tempo necessário para que ocorram as respostas fisiológicas ao aumento endógeno de ácido abscísico, há dois tipos de classificação: (1) respostas de curta duração que envolvem principalmente alterações no fluxo de íons e no balanço hídrico, completando-se após alguns minutos do aumento no conteúdo endógeno de ABA, como é o caso do fechamento estomático; e (2) respostas de longa duração que envolvem alterações mais profundas na expressão gênica, demorando algumas horas ou dias para se manifestarem, como é o caso da maturação de sementes (Fig. 12.7).

Percepção

Numa via de sinalização hormonal típica, a ligação do hormônio ao seu receptor desencadeia uma cascata de mensageiros secundários que, por fim, resulta em uma resposta celular. Embora algumas vias de sinalização desencadeadas pelo ABA se encon-

**FIGURA 12.6**

Redistribuição do ABA em tecidos foliares durante a alcalinização do apoplasto pelo estresse hídrico. Durante eventos de seca, a seiva do xilema torna-se mais alcalina, favorecendo a forma dissociada do ABA (ABA^-), a qual atravessa menos facilmente as membranas. Como resultado, sob condições de estresse hídrico, uma menor quantidade de ABA é absorvida pelas células do mesófilo e, conseqüentemente, mais ABA atinge as células-guardas.

**FIGURA 12.7**

Representação esquemática do mecanismo de ação e dos efeitos fisiológicos do ácido abscísico nas plantas.

trem já bem estabelecidas, o local e o mecanismo de percepção desse hormônio pelas células vegetais têm intrigado os fisiologistas vegetais por muitos anos.

Uma diversidade de abordagens metodológicas tem sido utilizada para avaliar se a percepção do ABA ocorreria por meio de receptores localizados na superfície celular, ou se o hormônio deveria penetrar na célula e se ligar a receptores intracelulares. Os resultados dessas pesquisas sugerem que a percepção do ABA pode ocorrer tanto extra- quanto intracelularmente, o que implica a existência de múltiplos receptores para esse hormônio. Contudo, apenas recentemente, a identidade e características de alguns desses receptores começaram a ser desvendadas.

Até o momento, foram identificadas três proteínas que apresentam alta afinidade pelo ABA. Uma dessas proteínas encontra-se na membrana plasmática, enquanto as outras duas localizam-se intracelularmente, corroborando, portanto, a hipótese de que a percepção do ABA ocorreria tanto na superfície quanto no interior da célula (Fig. 12.8).

O primeiro receptor do ABA a ser identificado foi a proteína FCA (do inglês *flowering-time control protein*), assim denominada por também estar envolvida no controle da indução floral em *Arabidopsis*. Trata-se de uma proteína de ligação ao RNA, localizada no núcleo da célula, capaz de influenciar a estabilidade do RNAm do gene repressor da floração *flc* (*flowering locus c*) e, dessa forma, modular a transição da fase vegetativa para a repro-

dutiva (ver Cap. 18, Floração). Trabalhos têm demonstrado que o ABA pode ligar-se à porção C-terminal do FCA e modular sua função sobre a indução floral. Contudo, sabe-se que essa proteína receptora não está relacionada com a sinalização dos principais eventos fisiológicos controlados pelo ABA, como o fechamento estomático e a germinação de sementes, representando, portanto, uma via específica de percepção desse hormônio.

A segunda proteína receptora do ABA localiza-se nos cloroplastos e recebe a denominação de ABAR (do inglês *abscisic acid receptor*). Ao contrário do FCA, o ABAR parece ser um dos principais responsáveis pela percepção do ABA durante a sinalização de diversas respostas controladas por esse hormônio, como os processos de germinação, controle estomático e alteração na expressão gênica. A superexpressão do gene ABAR em plantas transgênicas de *Arabidopsis* confere hipersensibilidade ao ABA, enquanto mutações nesse gene tornam as plantas insensíveis ao hormônio. Estudos têm mostrado que esse receptor encontra-se presente em folhas, caules, raízes, flores e frutos, sugerindo,

portanto, tratar-se de um mecanismo de percepção amplamente distribuído pelo corpo do vegetal. O mecanismo de ação desse receptor ainda não foi estabelecido.

Diferentemente do FCA e do ABAR, o terceiro receptor de ABA identificado em plantas, o GCR2, pertence a uma família de receptores bem conhecida, os receptores associados à proteína G. O GCR2 é uma proteína integral localizada na membrana plasmática que, como os demais membros da sua família, possui sete domínios transmembrânicos (Fig. 12.8). Mutações no gene GCR2 reduzem a sensibilidade das plantas ao ácido abscísico durante os processos de germinação, fechamento estomático e expressão de genes induzíveis por ABA. Ainda não é sabido se a percepção do ABA pelo GCR2 ocorre pelo lado citossólico ou apoplástico da membrana. Sugere-se que a transdução de sinal desencadeada pela ligação do ABA ao GCR2 inicia-se com a ativação de uma cascata típica das proteínas G.

Evidências obtidas com base em abordagens bioquímicas e moleculares sugerem a existência de ainda outros receptores

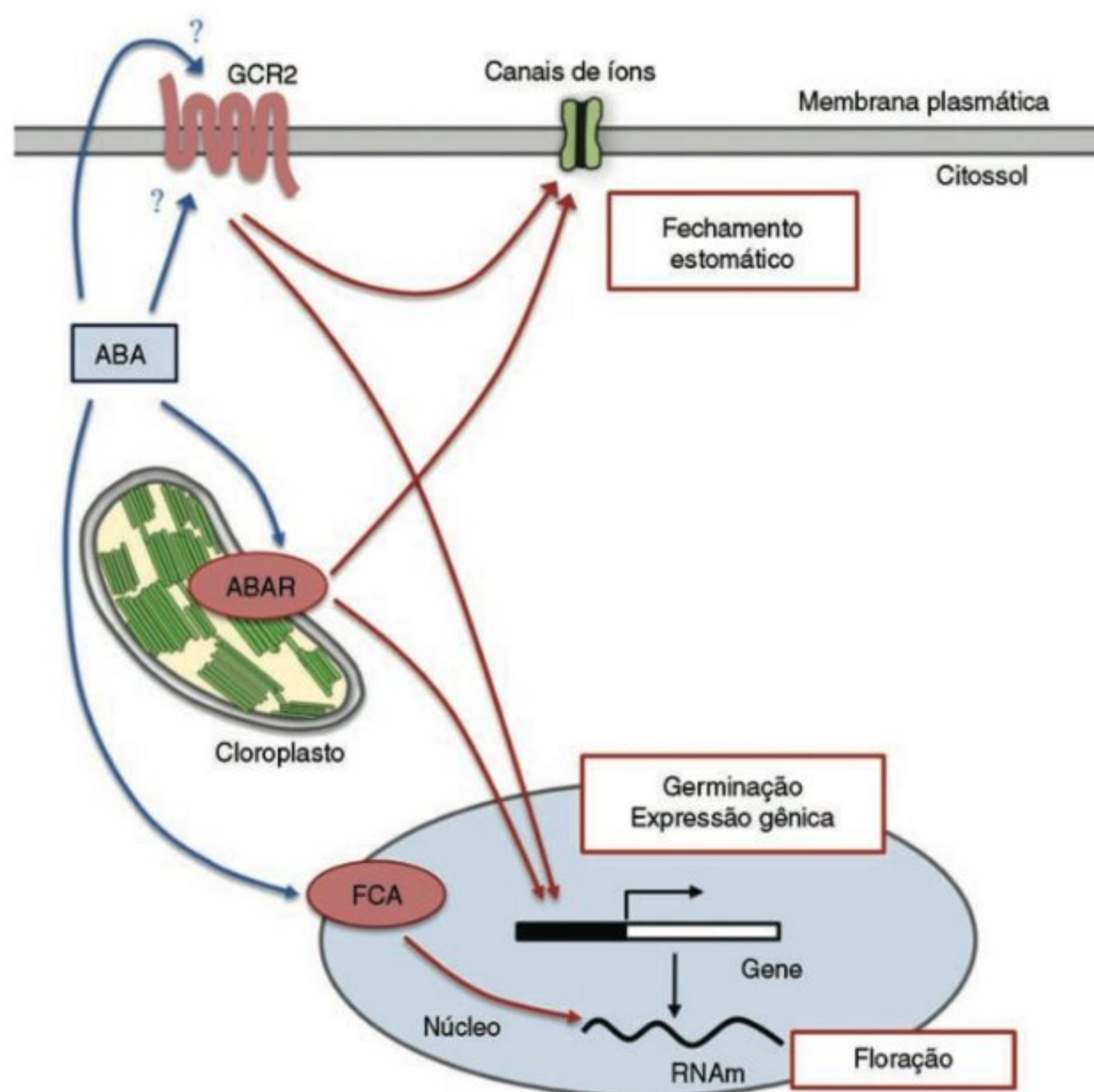


FIGURA 12.8

Localização e características dos receptores de ABA. O primeiro receptor de ABA a ser identificado, o FCA, é uma proteína nuclear envolvida especificamente no controle da estabilidade do RNAm do fator de transcrição responsável pela indução floral. O ABAR, por sua vez, é um receptor do ABA presente nos cloroplastos e envolvido no controle de diversas respostas desencadeadas por esse hormônio vegetal, tais como fechamento estomático, germinação e expressão gênica. O terceiro receptor para o ABA, o GCR2, é uma proteína integral localizada na membrana plasmática que também controla o fechamento estomático, a germinação e a expressão de genes induzidos pelo ABA. Ainda não é claro se a percepção do ABA pela GCR2 ocorre pelo lado externo ou interno da membrana.

para o ABA, contudo, suas identidades permanecem desconhecidas.

Transdução de sinais

As vias de transdução de sinal do ABA têm se revelado bastante complexas, envolvendo uma grande diversidade de mensageiros secundários, incluindo os radicais livres, íons, fosfoinositídeos, proteínas cinases, proteínas fosfatases, entre outros. Muitos desses mensageiros secundários participam das vias de transdução de sinais de diversas respostas desencadeadas pelo ABA, demonstrando um certo grau de conservação dos mecanismos de sinalização desse hormônio. Tendo em vista que grande parte do conhecimento atual acerca da transdução do sinal do ABA baseia-se no controle do fechamento estomático, nessa seção serão discutidas as principais etapas envolvidas na sinalização desse processo.

Como discutido no Cap. 1, o mecanismo de abertura e fechamento estomático é dependente de alterações na turgescência das células-guardas, as quais são responsáveis pelo grau de abertura do poro ou ostíolo. A turgescência dessas células, por sua vez, é regulada através do fluxo de íons através da membrana plasmática e do tonoplasto, especialmente o cátion potássio (K^+) e os ânions cloro (Cl^-) e malato $^{2-}$ (ver Cap. 1, Relações Hídricas). Esse controle do fluxo de íons durante o fechamento estomático é regulado, entre outros fatores, pela cascata de transmissão do sinal do ABA, a qual envolve diversas etapas (Fig. 12.9).

Um dos primeiros efeitos do ABA nas células-guardas é um aumento na concentração do cálcio citossólico ($[Ca^{2+}]_{cit.}$), resultante do influxo desse íon a partir do apoplasto, bem como de sua liberação a partir de estoques intracelulares, tais como o vacúolo e o retículo endoplasmático.

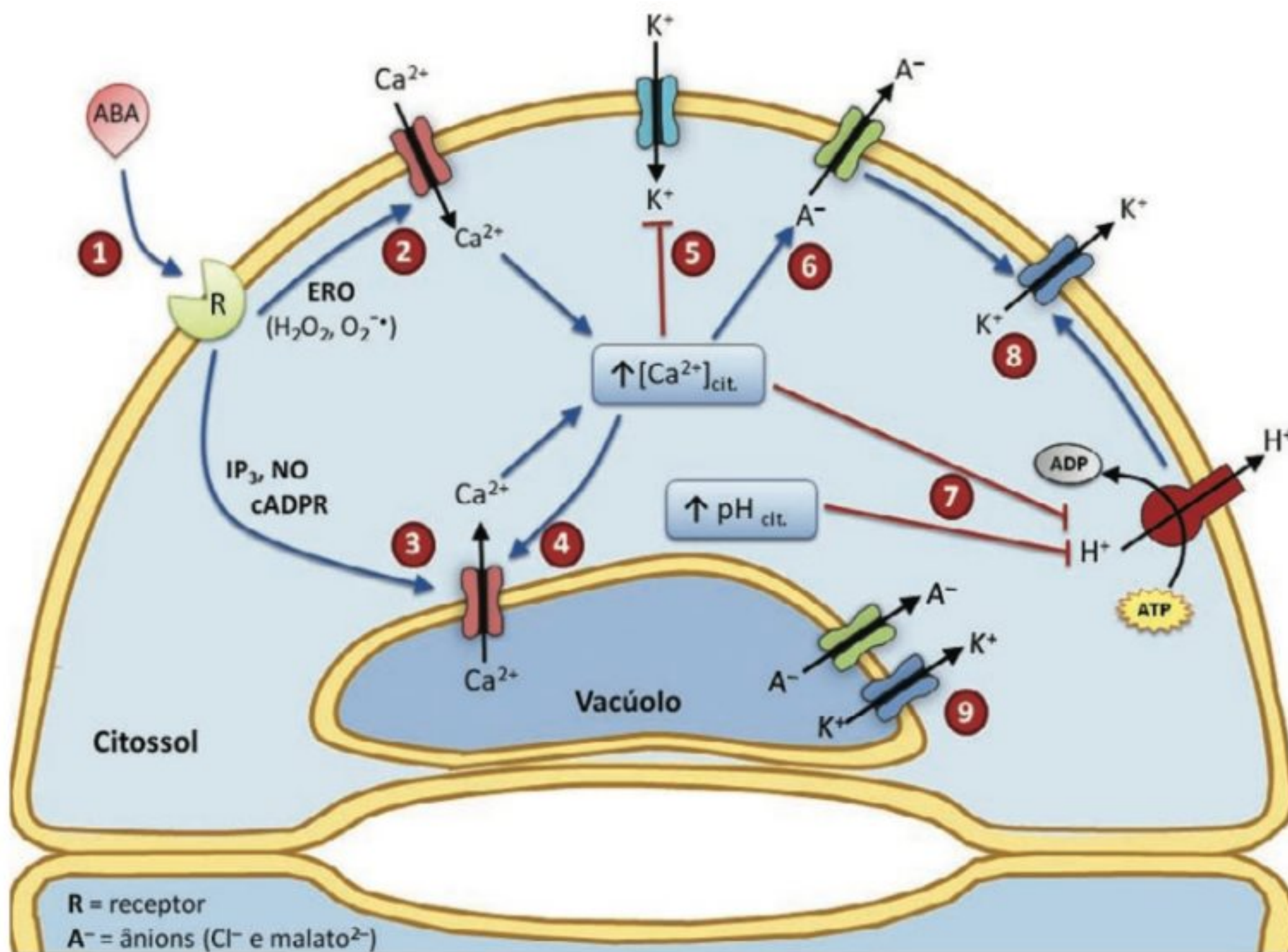


FIGURA 12.9

Representação esquemática do modo de ação do ácido abscísico em células-guardas, evidenciando o envolvimento de espécies reativas de oxigênio (ERO), do inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), da adenosina difosfato ribose cíclica (cADPR), do óxido nítrico (NO) e do cálcio citossólico ($[Ca^{2+}]_{cit.}$) como mensageiros secundários. (1) A molécula de ABA se liga ao seu receptor; (2) a ligação ABA-receptor estimula a produção de ERO, as quais desencadeiam a abertura de canais de Ca^{2+} presentes na superfície celular; (3) o ABA promove a liberação de cálcio de estoques intracelulares por meio da elevação nos níveis de IP_3 , NO e cADPR; (4) a liberação do Ca^{2+} a partir de estoques intracelulares também é estimulada pelo próprio aumento na concentração citossólica desse íon; (5) a elevação no $[Ca^{2+}]_{cit.}$ bloqueia os canais de influxo de K^+ ; (6) o aumento no $[Ca^{2+}]_{cit.}$ ativa os canais de efluxo de ânions (A^-), causando a despolarização da membrana; (7) a alcalinização do citossol e o aumento no $[Ca^{2+}]_{cit.}$ induzidos pelo ABA bloqueiam a bomba de prótons da membrana, acentuando sua despolarização; (8) a despolarização da membrana ativa os canais de efluxo de K^+ ; (9) antes de serem transportados para o apoplasto, os cátions K^+ e ânions Cl^- e malato $^{2-}$ são liberados do vacúolo para o citossol. Para facilitar a compreensão, o receptor de ABA foi ilustrado apenas na superfície celular. (As setas indicam ativação e as barras, inibição.)

O influxo de Ca^{2+} extracelular é estimulado por espécies reativas de oxigênio (ERO) produzidas logo após a ligação do ABA ao seu receptor. As principais formas de ERO que atuam como mensageiros secundários do ABA durante o fechamento estomático são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$).

A liberação do Ca^{2+} dos estoques intracelulares, por sua vez, é disparada por meio da elevação nos teores de outros mensageiros secundários do ABA, como o inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), o óxido nítrico (NO), a adenosina difosfato ribose cíclica (cADPR) ou, ainda, pelo próprio aumento nos níveis de Ca^{2+} citossólico.

O resultado imediato da entrada de íons Ca^{2+} no citossol é uma despolarização transitória da membrana plasmática, ou seja, uma perda temporária da diferença de cargas elétricas entre os dois lados da membrana. Essa despolarização temporária não é suficiente para ativar os canais de efluxo de K^+ , os quais requerem despolarizações de longa duração. Contudo, a elevação nos teores citossólicos de Ca^{2+} aliada à despolarização transitória da membrana ativam os canais de efluxo de ânions, fazendo com que grandes quantidades de Cl^- e malato $^{2-}$ sejam liberados para o apoplasto, a favor de seus gradientes eletroquímicos. Esse efluxo de ânions é mantido ativo prolongadamente, ocasionando uma despolarização da membrana plasmática de longa duração, a qual, por sua vez, ativa os canais de efluxo de K^+ .

Apesar do papel central do Ca^{2+} citossólico no controle da abertura estomática, estudos têm demonstrado que o fechamento estomático também pode ser induzido pelo ABA através de uma rota independente desse íon. Nessa via alternativa, o ABA desencadeia uma alcalinização do citossol da célula-guarda, a qual inibe a atividade das bombas de prótons (H^+ -ATPase) da membrana plasmática. A inibição do bombeamento de H^+ para fora da célula intensifica a despolarização da membrana plasmática, ativando os canais de efluxo de K^+ . Semelhante inibição da H^+ -ATPase também é causada pelo acúmulo de Ca^{2+} no citossol, evidenciando, portanto, um ponto de convergência entre as vias dependente e independente de Ca^{2+} (Fig. 12.9).

O resultado final da transdução do sinal do ABA nas células-guardas é uma liberação massiva dos íons K^+ , Cl^- e malato $^{2-}$ do vacúolo para o citossol e, posteriormente, do citossol para o apoplasto. A perda desses íons para o meio extracelular é acompanhada de uma saída de água da célula-guarda, reduzindo sua turgescência e, conseqüentemente, desencadeando o fechamento estomático.

Expressão gênica

Além de desencadear respostas fisiológicas através do controle do fluxo de íons e balanço hídrico, o ABA também está envolvido na regulação de uma grande diversidade de genes relacionados ao desenvolvimento de sementes e respostas de defesa a estresses ambientais.

Muitos genes associados com respostas de defesa a estresses abióticos, como o frio e o estresse hídrico, são expressos somente quando os teores de ABA são elevados — ABA-exigentes. Por outro lado, vários genes induzidos por estresses ambientais são indiferentes ao tratamento com ABA exógeno — ABA-insensíveis —, indicando a existência de, pelo menos, dois caminhos de expressão gênica em resposta ao estresse: um dependente e outro independente do ABA.

A análise dos promotores para identificação dos elementos *cis* e *trans* mediadores da transcrição mostrou vários elementos *cis* envolvidos na expressão de genes induzida pelo ABA. Esses elementos, denominados ABREs (do inglês *ABA Response Elements*), foram identificados pela primeira vez em genes das proteínas abundantes da embriogênese tardia (do inglês *LEA, late-embryogenesis-abundant*), de plantas de arroz e de trigo. Eles compartilham uma seqüência de 8 a 10 pares de bases com o cerne do tipo G-box ACGT. A seqüência ABRE também está presente em vários genes sensíveis ao ABA de diversas espécies vegetais.

Revisões detalhadas sobre o mecanismo de transdução de sinais do ABA nas plantas podem ser encontradas em Bray (1991); Ingram & Bartels (1996); Leung & Giraudat (1998); Campalans *et al.* (1999); Pei, 2005.

PRINCIPAIS FUNÇÕES DO ABA

As plantas, diferentemente dos animais, são indivíduos sésseis, sendo a semente a única fase móvel capaz de conquistar novos ambientes. Sujeitas às variações ambientais, as plantas desenvolveram, durante o processo evolutivo, mecanismos de proteção contra as injúrias causadas por condições adversas. Dentre esses mecanismos, destacam-se os hormônios vegetais, os quais atuam de forma integrada em processos bastante complexos, para acelerar, reduzir ou manter a atividade fisiológica nos diferentes órgãos, tecidos e células. O ácido abscísico, por exemplo, exerce múltiplos efeitos nas plantas, geralmente relacionados à atividade dos outros hormônios, especialmente as giberelinas, citocininas, etileno e brassinosteróides.

A combinação de diferentes procedimentos experimentais tem permitido uma melhor compreensão dos efeitos exercidos por esse hormônio. Dentre as principais abordagens utilizadas no estudo da influência do ABA sobre eventos fisiológicos, destacam-se: os tratamentos com ABA exógeno; a correlação entre a indução de respostas fisiológicas e os níveis endógenos de ABA (dosados através de técnicas cromatográficas ou imunensaaios específicos); a redução ou remoção do ABA endógeno através de inibidores de síntese de carotenóides ou de procedimentos genéticos.

Apesar de o ABA ter sido inicialmente identificado como um promotor da abscisão, sabe-se atualmente que seu efeito é indireto, ocorrendo através do aumento na síntese de etileno, o qual é de fato o hormônio responsável por esse processo. Por outro lado, um número crescente de evidências confirmam a participação do ácido abscísico nas respostas de proteção ao estresse

hídrico, desenvolvimento de sementes, dormência de gemas e proteção contra injúrias.

Proteção ao estresse hídrico

Em um estudo pioneiro, Wright & Hiron, em 1969, verificaram o aumento no nível endógeno de ácido abscísico em folhas de trigo destacadas e submetidas a déficit hídrico. Posteriormente, observações conduzidas por vários grupos de pesquisadores indicaram que um grande número de respostas fisiológicas ao estresse podem ser desencadeadas pela adição de ABA, destacando-se a redução da condutância estomática e da perda de água pelas folhas.

No início da década de 1980, H.G. Jones e I.R. Cowan, em trabalhos independentes, sugeriram que as raízes seriam capazes de perceber a redução na disponibilidade de água no solo. Esses órgãos enviariam para a parte aérea algum sinal (positivo, negativo e/ou cumulativo) que atuaria sobre o mecanismo estomático, regulando as trocas gasosas e evitando alterações no balanço hídrico foliar. O sinal positivo da raiz para a parte aérea envolveria a promoção da síntese e/ou do fornecimento de substâncias fisiologicamente ativas, as quais, em condições normais, não são sintetizadas, ou, quando sintetizadas, ocorrem em pequena quantidade. O sinal negativo, por sua vez, consistiria na inibição da síntese e/ou do fornecimento de substâncias normalmente sintetizadas e/ou exportadas pela raiz não-estressada. O sinal cumulativo corresponde ao acúmulo de substâncias na parte aérea, devido ao bloqueio de seu transporte e exportação para as raízes.

Poucos anos depois, estudos liderados por W.J. Davies, na Inglaterra, evidenciaram que, em plantas submetidas a estresse hídrico, o ácido abscísico atua como um sinal positivo, sendo transportado da raiz para a parte aérea através do xilema. As raízes localizadas nas camadas superficiais do solo seriam as responsáveis pela percepção do déficit hídrico, o qual estimula a síntese de ABA nesses órgãos. Como resultado, mais ABA é transportado para a parte aérea através da corrente transpiratória do xilema, provocando o fechamento estomático e reduzindo a perda de água por transpiração. Enquanto isso, as raízes mais profundas e em contato com regiões ainda úmidas do solo mantêm a absorção de água, preservando, dessa forma, a turgescência celular.

Entretanto, a imposição de estresse hídrico não resulta sempre em um aumento rápido no teor de ABA no sistema radicular. O estresse pode resultar numa maior sensibilidade dos tecidos ao ABA e/ou numa redistribuição ou síntese do hormônio nas folhas. O aumento de ABA nas folhas é geralmente independente, pelo menos no início do estresse, de sua concentração na seiva do xilema.

O ABA exerce um efeito diferencial sobre o crescimento da raiz e da parte aérea em plantas submetidas ao estresse hídrico. Enquanto o aumento na concentração desse hormônio mantém o crescimento do sistema radicular, permitindo exploração de um maior volume de solo para absorção de água, o ABA inibe o alongamento do caule. Em consonância, observa-se que o crescimento do sistema radicular de mutantes de *Arabidopsis* deficientes

(*aba1*) ou insensíveis (*abi1*) ao ABA geralmente não é estimulado por reduções na disponibilidade hídrica.

Os efeitos do ABA na proteção ao estresse hídrico são exercidos principalmente através da indução da expressão de genes que codificam a síntese de proteínas com função de evitar as perdas de água e restaurar os danos celulares. Dentre estas, incluem-se as proteínas envolvidas no metabolismo da sacarose e da prolina — solutos osmoticamente ativos —; as proteínas de transporte, como os canais de íons, e as proteínas envolvidas em degradações e em processos de reparo, como as proteases. Porém, as funções das proteínas da parede celular, das proteínas de transferência de lipídios e das histonas, também mediadas pelo ácido abscísico durante estresse hídrico, ainda não estão bem estabelecidas.

Desenvolvimento da semente

O ABA tem sido considerado um importante regulador de vários processos que ocorrem durante os dois últimos estágios de desenvolvimento da semente: a última metade da embriogênese e o início da maturação. Na maioria das espécies, essas duas etapas do desenvolvimento da semente são acompanhadas de elevações pronunciadas na concentração endógena de ABA.

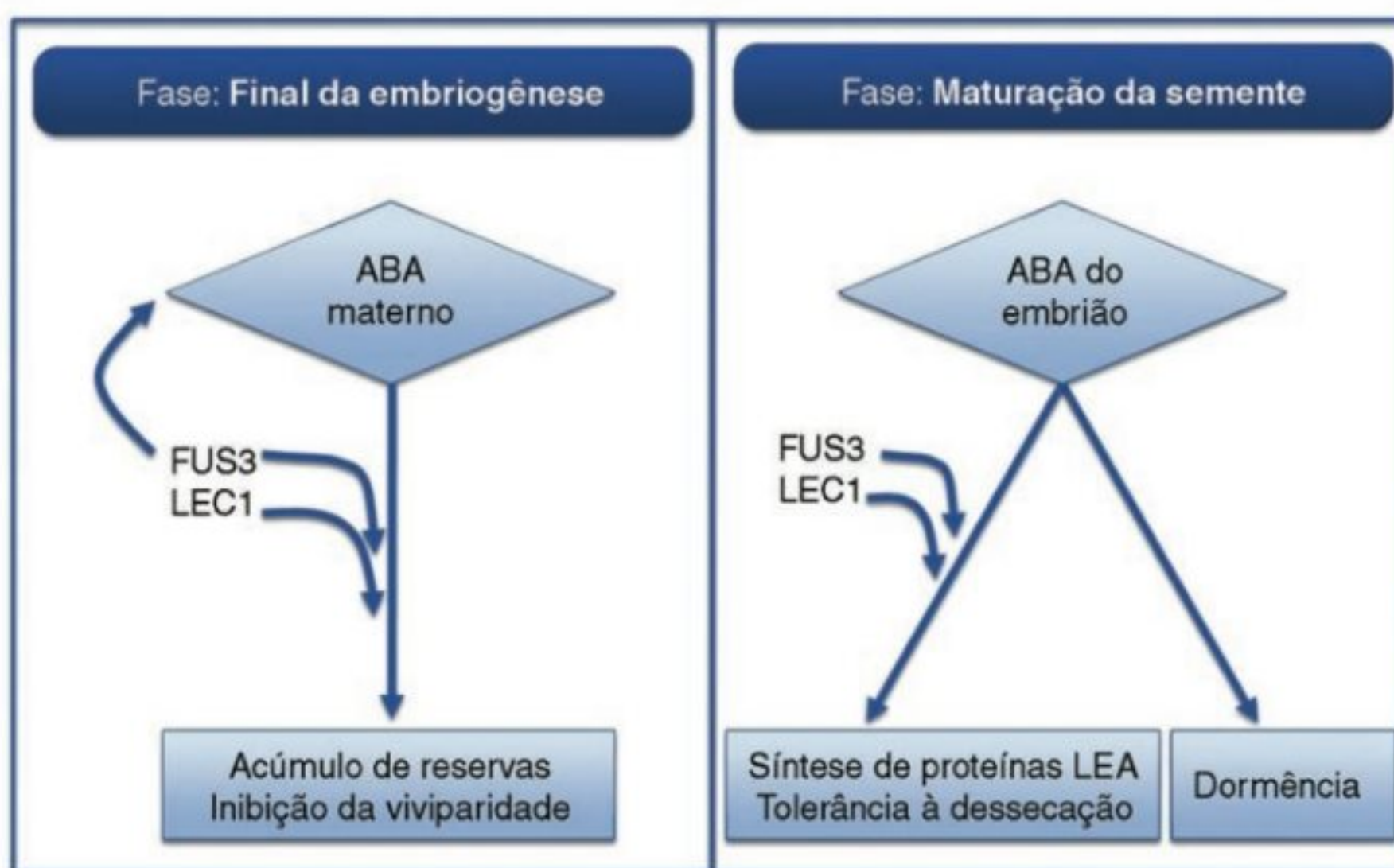
Na semente em formação, o ABA pode ser produzido tanto pelo embrião quanto pelo tecido materno. Estudos genéticos realizados com mutantes de *Arabidopsis* deficientes em ABA revelaram que essas duas fontes do hormônio atuam em momentos e processos distintos durante a formação da semente (Fig. 12.10).

Durante a última metade da embriogênese, observa-se o primeiro e principal pico de produção do ácido abscísico, sendo esse hormônio produzido exclusivamente pelos tecidos maternos. Justamente nessa fase do desenvolvimento da semente cessam as divisões celulares no corpo do embrião, o qual passa a crescer apenas por expansão celular. Paralelamente, inicia-se o acúmulo de substâncias de reserva na semente, tais como proteínas, lipídios e carboidratos (ver Cap. 20, Germinação).

O ABA produzido pelos tecidos maternos nesse período é considerado fundamental para inibir a viviparidade, ou seja, a germinação precoce do embrião em frutos ainda conectados à planta-mãe (Fig. 12.11). Um mecanismo possível para a ação do ABA no controle da viviparidade parece ser a sua capacidade de inibir as divisões celulares no corpo do embrião. Sabe-se, por exemplo, que o ABA é capaz de induzir a expressão de um inibidor das cinases dependentes de ciclina, mantendo, portanto, as células na transição de G₁ para S do ciclo celular.

Estudos realizados em plantas de *Arabidopsis* revelaram que a produção de fatores de transcrição inibitórios à viviparidade, como o FUSCA 3 (FUS3) e LEAF COTILEDON 1 (LEC1), coincide temporalmente com o aumento na produção do ABA pelos tecidos maternos. De modo coerente, durante a última fase da embriogênese, o fator de transcrição FUS3 estimula o conteúdo de ABA e reprime os níveis de giberelinas, as quais são consideradas promotoras da germinação (Fig. 12.10).

Evidências diretas da participação do ABA endógeno na supressão da germinação precoce também foram obtidas através

**FIGURA 12.10**

Esquema das rotas de sinalização envolvidas no desenvolvimento da semente. Durante o final da embriogênese, o aumento nos teores de ABA de origem materna é responsável pelo acúmulo de reservas na semente e inibição da viviparidade. Na fase de maturação da semente, por sua vez, o embrião é a principal fonte de acúmulo do ABA, o qual é necessário para induzir a síntese de proteínas LEA, a aquisição de resistência ao dessecação e a dormência da semente. Fatores de transcrição como o FUSCA 3 (FUS3) e o LEAF COTILEDON 1 (LEC1) atuam em conjunto com o ABA. (Modificada de Finkelstein *et al.*, 2002.)

de mutantes de milho deficientes na síntese desse hormônio (*vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp14*), cujas altas taxas de viviparidade podem ser revertidas com a aplicação de ABA exógeno. Além disso, sabe-se que enquanto embriões isolados e cultivados em meio de cultura

são capazes de germinar, em presença de ABA esse processo não é observado.

Ainda durante a última metade da embriogênese, o ABA produzido pelos tecidos maternos parece influenciar também o acúmulo de reservas na semente. Mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA normalmente apresentam uma redução na síntese e acúmulo de proteínas nos tecidos de reserva de suas sementes. Além disso, em muitas espécies, o tratamento de embriões isolados com ABA exógeno também resulta no aumento da estocagem de proteínas de reserva. Ainda não existem dados conclusivos acerca da influência do ABA sobre o acúmulo de carboidratos e lipídios nas sementes.

Portanto, o ABA produzido durante a última metade da embriogênese teria duas funções principais sobre o desenvolvimento da semente: inibir a viviparidade e estimular o acúmulo de substâncias de reserva.

Após o término da embriogênese, durante a etapa de maturação da semente, observa-se um segundo pico de produção de ABA. Essa produção mais tardia do hormônio se deve ao próprio embrião e é considerada crítica para a sinalização de processos característicos dessa fase, como a indução da síntese de proteínas LEA, a aquisição de tolerância à dessecação e a inibição da germinação.

Nas sementes em formação, a aquisição de tolerância à dessecação está associada à expressão de conjuntos específicos de RNAs. Transcritos codificando as proteínas LEA, provavelmente envolvidas na proteção dos tecidos contra a desidratação, podem ser precocemente induzidos nos embriões em cultura por meio do tratamento com ABA exógeno. De forma condizente,

**FIGURA 12.11**

Germinação precoce do mutante *not* de tomate, o qual é deficiente na síntese de ABA devido à incapacidade de realizar a clivagem oxidativa necessária para a formação da xantoxina. (Foto gentilmente cedida pelo Dr. Lázaro E. P. Peres; ESALQ-USP.)

mutantes de *Arabidopsis* insensíveis ao ABA (*abi3*, *abi4*, *abi5*) apresentam uma menor expressão de certas proteínas LEA. A síntese dessas proteínas LEA é fortemente controlada pela interação de fatores de transcrição, sendo promovida, por exemplo, pelo FUS3 e o LEC1.

Além da sua função na embriogênese e maturação da semente, o ABA é considerado importante para induzir a dormência. A dormência primária, induzida por ABA, é imposta à semente ainda conectada à planta-mãe. A imposição de dormência pode estar relacionada ao conteúdo endógeno de ABA e também à sensibilidade da semente ao hormônio. A manutenção da dormência nem sempre é dependente da presença do hormônio, pois, durante a maturação, os teores de ABA reduzem-se a valores baixos e, mesmo, nulos. Entretanto, em algumas plantas, o teor desse hormônio se mantém elevado, inclusive na semente madura. Em *Arabidopsis*, por exemplo, o ABA inibe a germinação, sendo que os mutantes insensíveis ao hormônio (*abi1* a *abi5*) não apresentam dormência e são capazes de germinar mesmo na presença de 3-10 μM de ABA.

Nas sementes de cereais, enquanto as giberelinas exercem um efeito promotor na germinação, o ABA atua no sentido oposto, inibindo a síntese de enzimas hidrolíticas, especialmente de α -amilase na camada de aleurona. Recentemente, verificou-se que o ABA inibe a expressão do GA-MYB, o qual constitui um importante fator de transcrição que controla a expressão da α -amilase induzida pelas giberelinas (ver Cap. 11, Giberelinas).

Revisões recentes das bases genéticas desses mecanismos estão detalhadas em Black (1991), Bewley & Black (1994), Rock & Quatrano (1995) e Leung & Giraudat (1998), Kermode (2005).

Dormência de gemas

A inibição do crescimento vegetativo provocada pelo ácido abscísico é um dos efeitos mais comuns desse hormônio. Em plantas lenhosas de regiões temperadas, o nível de ABA geralmente se eleva em resposta às condições de dias curtos, quando o crescimento é reduzido e a dormência das gemas é imposta. As folhas são as responsáveis pela percepção do estímulo ambiental, sintetizando o ABA que é transportado para as gemas, onde provoca a dormência.

A aplicação de ABA em gemas não-dormentes também pode induzir a dormência. Entretanto, em algumas espécies, o transporte de ABA no início da dormência é baixo, e nem sempre condições de dias curtos causam aumento do ABA endógeno nas gemas.

Senescência

A participação do ácido abscísico na senescência ainda não se encontra bem estabelecida, especialmente no que tange à interação desse fitormônio com outras classes hormonais, como as citocininas e o etileno. Enquanto alguns resultados indicam um efeito promotor do ABA na senescência, outros não apresentam correlação direta entre o hormônio e esse processo. Essas controvérsias podem ser devidas ao balanço variável entre substâncias

promotoras e inibitórias da senescência nos tecidos em diferentes estágios de desenvolvimento. Por exemplo, apesar de o teor de ABA ser maior em folhas jovens, estas podem conter também concentrações mais elevadas de substâncias inibitórias da senescência.

Proteção contra injúrias

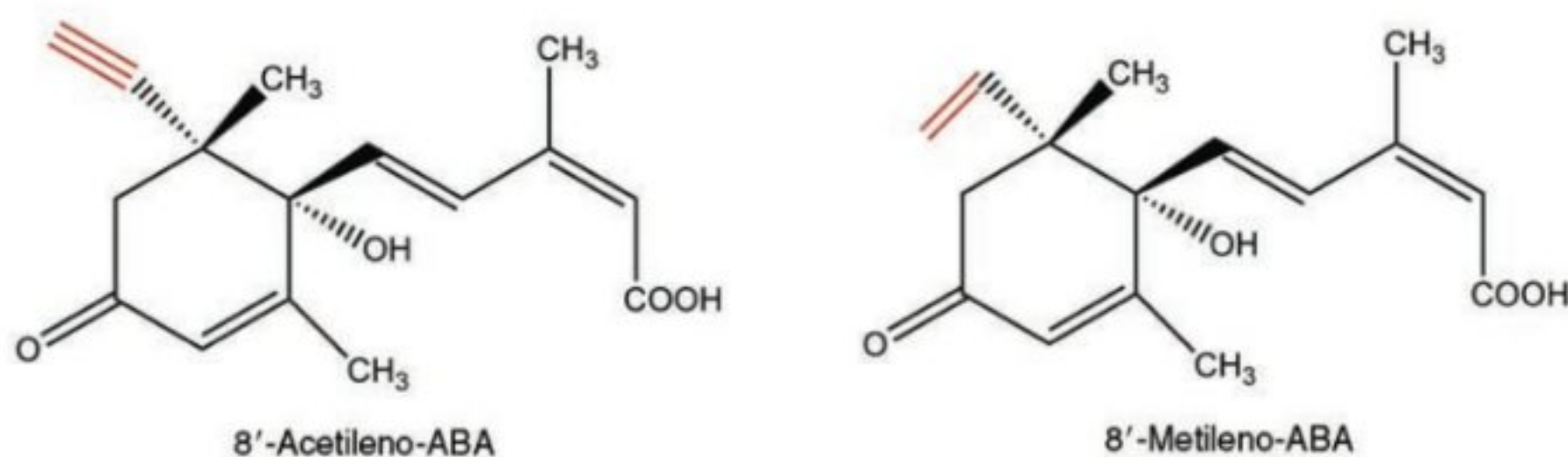
Ferimentos causados por herbivoria ou injúria mecânica causam danos ao revestimento externo de proteção da planta, criando uma via de entrada para inúmeros patógenos. Em resposta aos ferimentos, o padrão de expressão gênica é substancialmente alterado, induzindo a síntese de grupos de proteínas envolvidas na cicatrização e na prevenção à invasão por patógenos. A resposta de defesa é sistêmica, pois, enquanto alguns genes são expressos localmente, outros são ativos em órgãos não-danificados.

A família de genes inibidores de proteinases II (*pin2*) identificada em batata e tomate é o exemplo mais bem caracterizado de expressão gênica nas respostas aos ferimentos. Vários estudos indicam o envolvimento do ABA na indução da expressão dos genes *pin2*. Os mutantes *droopy* de batata e *sit* de tomate são deficientes em ABA e não apresentam acúmulo de RNAm dos genes *pin2*, observado apenas após tratamento com o hormônio, alcançando teores semelhantes aos verificados nas plantas selvagens submetidas a injúria.

APLICAÇÕES PRÁTICAS DO ABA

Muitas aplicações comerciais para os hormônios vegetais ou seus análogos sintéticos já foram encontradas, mas, no contexto da produção agrícola mundial, a contribuição desses compostos, em termos econômicos, permanece pequena. A auxina tem sido utilizada na propagação de plantas, no controle da expressão sexual e como herbicida seletivo; a giberelina, aplicada no processo de maltagem da cevada e no desenvolvimento de uvas; a citocinina, utilizada na manipulação do crescimento de plantas ornamentais e inibição da senescência, enquanto o etileno é utilizado no controle da produção de látex e modificação das características pós-colheita de frutos e flores. Entretanto, as aplicações do ácido abscísico parecem limitadas até o momento, apesar do direcionamento de várias pesquisas.

O sucesso na utilização comercial da auxina se deve, provavelmente, à síntese de análogos com alta atividade biológica e boa estabilidade, tanto na planta quanto no ambiente. O ABA, por apresentar rápido metabolismo e fotodestruição, tem sua utilização como produto comercial ainda limitada. Como várias características da molécula do ABA são essenciais à sua atividade biológica, as possibilidades de produzir análogos ativos são reduzidas. Entretanto, foram obtidos compostos análogos com um carbono adicional ligado à posição 8' da molécula do ABA. Esses compostos, o 8'-acetileno-ABA e 8'-metileno-ABA (Fig. 12.12), têm vida média mais longa e exercem efeitos semelhantes ao ABA na proteção ao estresse, na dormência e na germinação de sementes. O 8'-metileno-ABA é mais ativo que o próprio ABA na inibição da germinação do grão e do embrião isolado de trigo,

**FIGURA 12.12**

Estrutura química do 8'-acetileno-ABA e 8'-metileno-ABA, análogo sintético do ácido abscísico.

na supressão do crescimento de células de milho em cultura e na redução da transpiração em plântulas de trigo.

A viabilidade do uso na agricultura dos compostos análogos ao ABA está sendo testada experimentalmente, tendo sido obtidos resultados satisfatórios na proteção de plantas de abóbora e tomate à baixa temperatura e disponibilidade reduzida de água no solo, e na manutenção da dormência de gemas em tubérculos armazenados de batata.

À medida que os conhecimentos sobre as bases genéticas de biossíntese e do mecanismo de ação do ABA forem firmemente estabelecidos, será possível desenvolver programas de seleção, melhoramento e engenharia genética para a obtenção de plantas com teores elevados ou reduzidos de ABA. Programas de seleção, especialmente em cereais, estão sendo conduzidos. Embora os resultados ainda não possam ser extrapolados para o campo, acredita-se que o futuro seja promissor.

REFERÊNCIAS

- Addicott FT (ed). *Abscisic Acid*. Praeger Publishers. New York, 1983, 607p.
- Bewley JD, Black M (eds). *Seeds Physiology of Development and Germination*. 2nd ed. Plenum Press, New York, 1994, 445p.
- Black M. Involvement of ABA in the physiology of developing and mature seeds. In: Davies WJ, Jones HG (eds). *Abscisic Acid Physiology and Biochemistry*. Environmental Plant Biology Series. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, 1991, pp 99-124.
- Bray EA. Regulation of gene expression by endogenous ABA during drought stress. In: Davies WJ, Jones HG (eds). *Abscisic Acid Physiology and Biochemistry*. Environmental Plant Biology Series. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, 1991, pp 81-98.
- Campalans A, Messeguer R, Goday A, Pagès M. Plant responses to drought, from ABA signal transduction events to the action of the induced proteins. *Plant Physiol Biochem*, 1999; 37:327-340.
- Cowan IR. Regulation of water use in relation to carbon gain in higher plants. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H. (eds). *Physiological Plant Ecology II*. Springer-Verlag, Berlin, 1982, pp 589-614.
- Davies WJ, Jones HG. *Abscisic Acid Physiology and Biochemistry*. Environmental Plant Biology Series. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, 1991, 266p.
- Finkelstein R, Gampala S, Rock C. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*, 2002; 14:S15-S45.
- Ho T-hD. Biochemical mode of action of abscisic acid. In: Addicott FT (ed) *Abscisic Acid*. Praeger Publishers, New York, 1983, pp 147-169.

- Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Ann Rev Plant Physiol Mol Biol*, 1996; 47:377-403.
- Jones HG. Interaction and integration of adaptive responses to water stress: the application of an unpredictable environment. In: Turner NC, Kramer PJ (eds). *Adaptation of Plant to Water and High Temperature Stress*. Wiley, New York, 1980, pp 353-365.
- Leung J, Giraudat J. Abscisic acid signal transduction. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998; 49:199-222.
- Kermode AR. Role of abscisic acid in seed dormancy. *J Plant Growth Regul*, 2005; 24:319-344.
- Pei ZM, Kuchitsu K. Early ABA signaling events in guard cells. *J Plant Growth Regul*, 2005; 24:296-307.
- Rock CD, Quatrano RS. The role of hormones during seed development. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1995, pp 671-697.
- Taylor IB. Genetics of ABA synthesis. In: Davies WJ, Jones HG (eds). *Abscisic Acid Physiology and Biochemistry*. Environmental Plant Biology Series. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, 1991, pp 23-37.
- Thomas TL, Chung H-J, Nunberg NA. ABA signaling in plant development and growth. In: Aducci P (ed). *Signal Transduction in Plants*. Birkhäuser Verlag, Berlin, 1997, pp 23-43.
- Wright STC, Hiron RWP. [1]-Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature*, 1969; 224:719-720.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Cunningham Jr. FX, Gantt E. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998; 49:557-583.
- Cutler AJ, Krochko JE. Formation and breakdown of ABA. *Trends in Plant Science*, 1999; 4:472-478.
- Davies PJ. *Plant Hormones Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1995, 833p.
- Davies WJ, Jeffcoat B (eds). *Importance of Root to Shoot Communication in the Responses to Environmental Stress*. British Society for Plant Growth Regulation — Monograph n^o 21, Bristol, 1990, 398p.
- Davies WJ, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Ann Rev Plant Physiol Mol Biol*, 1991; 42:55-76.
- Lichtenthaler HK. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999; 50:47-65.

Liottenberg S, North H, Marion-Poll A. Molecular biology and regulation of abscisic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiol Biochem*, 1999; 37:341-350.

Milborrow BV. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *J Exp Bot*, 2001; 52:1145-1164.

Seo M, Koshiha T. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 2002; 7:41-48.

Taylor IB, Burbidge A, Thompson AJ. Control of abscisic acid synthesis. *J Exp Bot*, 2000; 52:1563-1574.

Etileno

Sandra Colli e Eduardo Purgatto

HISTÓRICO DA DESCOBERTA DO ETILENO

O etileno, um hidrocarboneto insaturado gasoso que apresenta uma das moléculas orgânicas mais simples com atividade biológica (C_2H_4), é um dentre as centenas de compostos voláteis que as plantas produzem.

Estímulos à biossíntese de etileno ou à exposição das plantas a concentrações biologicamente eficazes desse gás foram (e continuam sendo) empregados na manipulação de várias culturas e nas práticas de pós-colheita. Um dos exemplos mais antigos, a prática de fazer incisões em frutos de figo (*Ficus sycomorus*) para estimular o amadurecimento, data do início da civilização egípcia. Sabe-se, hoje, que esses ferimentos são indutores da síntese de etileno.

Em 1893, foi verificado nos Açores que a fumaça produzida pela queima de serragem de madeira promovia a floração em plantas de abacaxi cultivadas em casa de vegetação. Quarenta anos mais tarde, produtores dessa fruta em Porto Rico passaram a induzir a floração, expondo as plantas à fumaça durante 12 horas.

No século XIX, usava-se o gás como fonte de iluminação. Fahnestock (1858) observou que esse gás danificou uma coleção de plantas mantidas em casa de vegetação na Filadélfia, causando senescência e abscisão das folhas. Após alguns anos, em 1864, danos em árvores próximas a vazamentos desse gás foram relatados por Girardin, que identificou o etileno como um dos seus componentes.

A descoberta do etileno como um componente biologicamente ativo do gás de iluminação foi feita por Dimitry Nikolayevich Neljubow, um jovem estudante russo do Instituto de Botânica da Universidade de São Petersburgo. Em 1901, Neljubow verificou que a aplicação de $0,06 \mu l l^{-1}$ de etileno em plantas de ervilha crescidas no escuro produzia três respostas no caule: inibição do

alongamento, aumento radial (intumescimento) e uma orientação horizontal desse órgão (Fig. 13.1), fenômeno cunhado posteriormente de *resposta tríplice*.

A primeira indicação de que o etileno era um produto natural dos tecidos vegetais foi registrada por Cousins, em 1910. Esse pesquisador sugeriu ao governo da Jamaica que o amadureci-

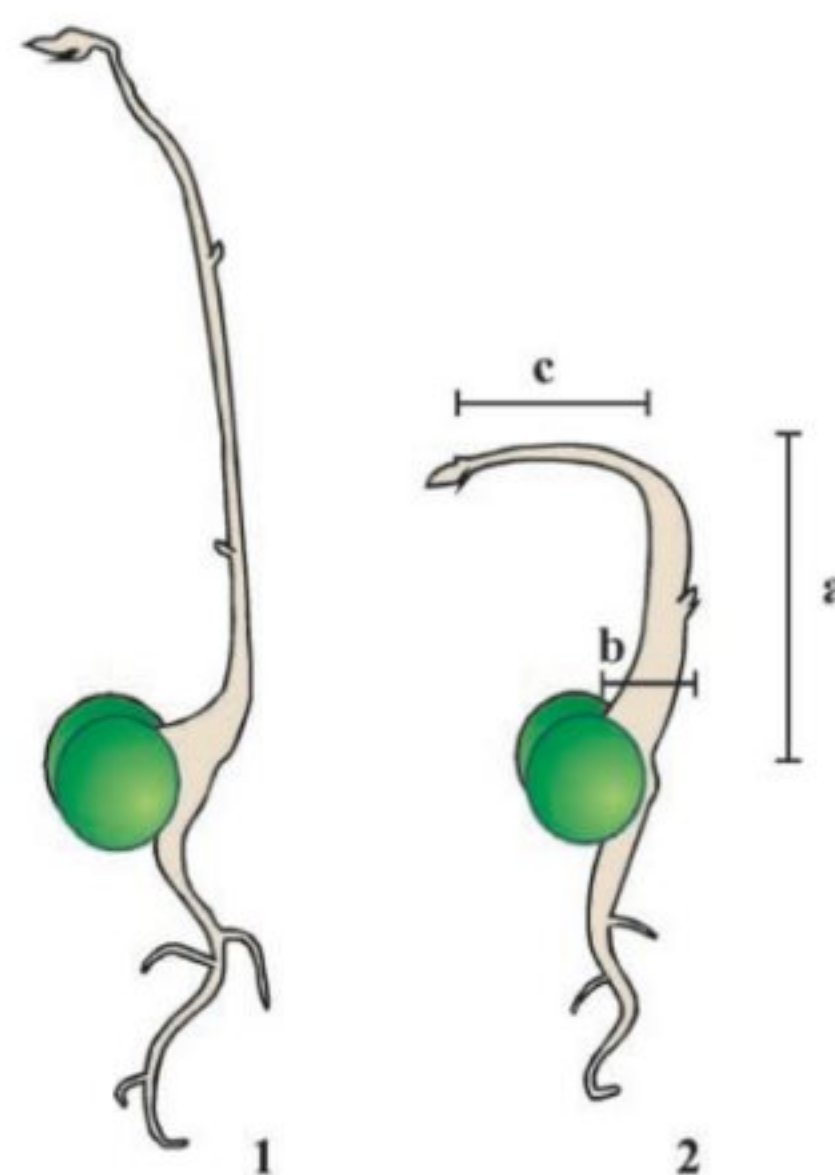


FIGURA 13.1

Representação esquemática de plântulas estioladas de ervilha. (1) Plântula em água; (2) plântula tratada com etileno, apresentando no epicótilo: a) inibição do alongamento; b) aumento de expansão radial; c) orientação horizontal de crescimento.

mento prematuro das bananas poderia ser evitado se essas frutas não fossem armazenadas com laranjas. As laranjas, apesar de não produzirem tanto etileno quanto outros frutos, poderiam estar infectadas por *Penicillium*, o que acarretaria o amarelecimento e a abscisão de frutos, conforme observado em limoeiro por Biale, em 1940.

Entre 1917 e 1937 foram realizados vários estudos sobre o efeito do etileno no amadurecimento de frutos. Em 1933, Botjes observou que o etileno liberado por maçãs maduras provocava epinastia foliar em plântulas de tomate e alterações no desenvolvimento de caules estiolados de ervilhas. Gane, um cientista inglês, apresentou, em 1935, provas químicas de que o etileno era produzido por plantas. Finalmente, os pesquisadores Crozier, Hitchcock e Zimmerman (1935) sugeriram que o etileno seria um regulador endógeno de crescimento, e poderia ser considerado um hormônio do amadurecimento.

A partir da metade da década de 1930 até o final dos anos 1950, ocorreu uma diminuição do interesse dos fisiologistas de plantas pelo etileno, devido à inexistência de técnicas precisas de análise desse gás e à descoberta de novos hormônios. Em 1959, o interesse pelo etileno foi intensificado quando os americanos Burg e Stolwijk e os australianos Huelin e Kennett demonstraram as potencialidades da cromatografia gasosa como uma técnica analítica para a sua quantificação, possibilitando inúmeros estudos com esse hormônio. Atualmente, os estudos desse gás têm sido refinados pela adição de detectores de fotoionização e fotoacústicos, favorecendo a quantificação de teores bastante baixos de etileno.

OCORRÊNCIA DO ETILENO

O etileno em atmosfera natural não-poluída é encontrado em concentrações de 0,001 a 0,005 $\mu\text{l l}^{-1}$. As plantas normalmente não produzem etileno suficiente para alterar os níveis no ambiente ao seu redor. Em locais fechados, ele pode ser acumulado em maiores concentrações, produzindo efeitos fisiológicos nas plantas e causando perdas econômicas.

Em ambiente urbano, o nível pode ser de 10 a 100 vezes maior do que o detectado no campo, conforme registrado na Califórnia (0,5 $\mu\text{l l}^{-1}$), Alemanha (0,2 $\mu\text{l l}^{-1}$), Índia (0,1 $\mu\text{l l}^{-1}$) e Nova York (0,03 $\mu\text{l l}^{-1}$), principalmente em dias nublados e sem vento. As principais fontes nesses locais são os automóveis, o fogo e a indústria.

O etileno pode ser produzido por vários organismos, desde bactérias, fungos, algas e musgos até as plantas vasculares, como samambaias, gimnospermas e angiospermas.

Apesar de as bactérias produzirem etileno, pouco é conhecido sobre o papel deste gás na fisiologia desses organismos. Algumas bactérias, como a *Mycobacterium paraffinicum*, convertem o etileno do solo em óxido de etileno, mantendo o nível desse gás em concentrações apropriadas, já que ele é mais facilmente acumulado no solo do que no ar. As bactérias produtoras de etileno promovem a senescência das plantas, facilitando a infecção por microrganismos. *Pseudomonas solanacearum*, por

exemplo, é responsável pela produção de etileno, que causa o amadurecimento prematuro de bananas.

Uma grande quantidade de fungos, como *Penicillium digitatum*, *P. cyclopium*, *P. velutinum*, *Mucor hiemalis*, *Agaricus bisporus*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus clavatus* e *A. flavus*, produzem etileno; todavia, sua função ainda é desconhecida. Aparentemente, a produção de etileno não aumenta a patogenia do fungo, provocando indiretamente a senescência da planta.

As algas *Chlorella* e *Acetabularia mediterranea* também podem produzir etileno; esta última, possivelmente, através da mesma via biossintética das plantas superiores. Por outro lado, a produção de etileno nas plantas não-vasculares ocorre através de outra via metabólica, pois a aplicação de ACC (precursor do etileno, ver adiante) não aumentou a produção desse gás em *Marchantia polymorpha*, *Funaria polymorpha*, *Sphagnum cuspidatum*, *Selaginella wildenovii*, *Lycopodium phlegmaria* e *Equisetum hyemale*, *Trichomanes speciosum*, *Ophioglossum reticulatum*, *Salvinia natans* e *Azolla caroliniana*. A possibilidade da existência de uma via primitiva de síntese desse gás, independentemente de ACC, necessita ainda de mais estudos. Em *Pteridium aquilinum*, *Matteuccia struthiopteris* e *Polystichum munitum*, entretanto, a síntese de etileno seria feita através da mesma via das plantas superiores, pois a sua produção foi promovida pelo ACC e inibida pelo íon cobalto.

O etileno é produzido por todas as partes das plantas superiores, sendo a taxa de produção dependente do tipo de tecido e do estágio de desenvolvimento. Os tecidos meristemáticos e as regiões nodais geralmente apresentam uma produção elevada desse gás, também observada durante a abscisão de folhas, a senescência de flores e o amadurecimento de frutos ($>1,0 \text{ nl gm}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Dependendo dos teores de etileno produzido durante esse último processo, os frutos são divididos em climatéricos (com produção de teores elevados de etileno), como a maçã, a banana, o tomate, o abacate e a manga, e não-climatéricos (com produção de baixos teores de etileno) como a laranja, o limão e a uva (ver Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento). Na germinação, há um aumento na taxa de produção de etileno durante a protrusão da radícula e o desenvolvimento da plântula. Plantas submetidas a estresses físicos ou biológicos, como ferimentos, alagamento, doenças, temperaturas inadequadas ou períodos de seca, elevam, geralmente, a produção de etileno.

BIOSSÍNTESE E INATIVAÇÃO

O etileno é um composto simétrico de dois carbonos com uma dupla ligação e quatro hidrogênios, peso molecular de 28,05, densidade relativa no ar de 0,978, inflamável, incolor, com odor adocicado similar ao éter (Fig. 13.2).

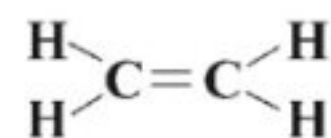


FIGURA 13.2
Fórmula química do etileno.

Algumas substâncias com atividade biológica similar à do etileno, como o propileno e o acetileno, são consideradas análogas a esse gás, sendo moléculas preferencialmente pequenas e com duplas ligações (cadeias longas de carbono contendo ligações triplas têm menor atividade biológica).

A via biossintética do etileno (Fig. 13.3) nas plantas vasculares é hoje bem conhecida, tendo sido elucidada por Adams e Yang (1979), que verificaram, com o uso de carbono marcado, a conversão da L-metionina à S-adenosilmetionina (AdoMet ou SAM) e desta aos produtos: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), 5'-metiltioadenosina (MTA), 5'-metiltiorribose e etileno (Fig. 13.3). A metionina é convertida a AdoMet pela enzima AdoMet sintetase. A conversão do AdoMet a ACC e MTA, catalisada pela ACC sintase, corresponde à reação-chave da via biossintética do etileno. O AdoMet também participa da síntese de poliaminas, podendo haver competição por esse substrato entre essa via metabólica e a de etileno. O ACC é convertido a etileno pela ACC oxidase ou a N-malonil ACC (MAcc) por ação da malonil transferase. O MAcc é uma forma conjugada, não-volátil, que se acumula nos tecidos, representando uma etapa regulatória da inativação do ACC. Um segundo conjugado de ACC, o 1-(γ -L-glutamil-amino)ciclopropano-1-carboxílico (GACC), também foi recentemente identificado.

A 5'-metiltioadenosina (MTA), através da MTA nucleosidase, é convertida a 5'-metiltiorribose (MTR), e esta a 5'-metiltiorribose-1-fosfato (MTR-1-P), pela ação da MTR cinase. A MTR-1-P gera, por oxidação, o ácido α -ceto- γ -metiltiobutírico (KMB), possivelmente através de desidrogenases. O KMB é convertido a metionina por uma transaminase específica, sendo a L-glutamina o doador mais eficiente de amina. Essa seqüência de reações a partir da MTA tem a finalidade de reciclar a metionina e o enxofre para o reaproveitamento do grupo metiltio ($\text{CH}_3\text{-S}$) e manutenção da produção de etileno.

Estudar a biossíntese do etileno com as principais enzimas envolvidas nesse processo é importante para compreender a regulação desse hormônio.

A ACC sintase, responsável pela conversão de AdoMet a ACC e MTA, é uma enzima citossólica presente em várias plantas. Devido à sua baixa disponibilidade e labilidade (por exemplo, em tomate sua meia-vida é de apenas 58 minutos), a ACC sintase permanece parcialmente purificada. A atividade dessa enzima é dependente de piridoxal 5-fosfato, e inibidores como o AVG (aminoetoxivinilglicina) e o AOA (ácido amino-oxiacético), bloqueiam a conversão de AdoMet a ACC.

Vários laboratórios têm clonado genes da ACC sintase de várias plantas, como o arroz, soja e tabaco, e de frutos de tomates e maçãs. A seqüência de aminoácidos mostra elevado grau de similaridade com as aminotransferases. Os resultados indicam a existência de isoformas derivadas de uma família multigênica, cada uma codificada por um gene diferente. Em tomateiros, há pelo menos nove genes para a ACC sintase, expressos de maneira distinta nos tecidos, dependendo do desenvolvimento das plantas ou em respostas aos fatores ambientais.

Uma forma da ACC sintase em tomateiro, ACS2, tem sido implicada como uma das principais responsáveis pela síntese

autocatalítica do hormônio durante o amadurecimento do fruto. Estudos recentes indicam que esta isoforma (e possivelmente outras) seja regulada por um mecanismo de fosforilação em uma região bem definida da proteína. A princípio imaginou-se que esta modificação tornaria a enzima ativa, aumentando a síntese do etileno nos frutos do tomateiro, durante o amadurecimento. No entanto, foi observado em experimentos *in vitro*, com a proteína ACS2 isolada, que, fosforilada ou não, a enzima mantinha o mesmo nível de atividade. Neste caso, concluiu-se que a fosforilação seria parte de um mecanismo regulatório que só exerceria alguma função *in vivo*, pois seria dependente da presença de outros componentes celulares.

O papel da fosforilação da ACS2 foi identificado graças a um mutante de *A. thaliana* denominado *superprodutor de etileno 1* (*eto1 — ethylene over-producer 1*) que, como o próprio nome indica, produz altos níveis do hormônio e apresenta um fenótipo de resposta tríplice constitutiva. A mutação *eto1* foi caracterizada como uma deficiência na produção de uma proteína capaz de se ligar na região carboxi-terminal de várias formas da ACC sintase. A proteína ETO1, quando ligada à ACC sintase, marca esta enzima e permite, assim, seu reconhecimento pelo sistema de ubiquitinação da célula. Uma vez ubiquitinada, a enzima é degradada pelo complexo de proteases que compõe o proteossomo 26S.

No modelo proposto na Fig. 13.4A, a fosforilação da porção carboxi-terminal da ACS2 aumenta a estabilidade da enzima, por impedir a ligação da proteína ETO1 nesta região. Deste modo a meia-vida da enzima fica aumentada em relação à sua versão não fosforilada, e a produção de etileno é mantida em níveis elevados. Somente após a ação de uma fosfatase (ainda não identificada, Fig. 13.4B), a proteína ACS2 é desfosforilada na porção C-terminal, permitindo assim a ligação da proteína ETO1 e marcando a proteína ACS2 para degradação pelo sistema ubiquitina/proteossomo 26S. Desta forma, os níveis de ACS2 são reduzidos, o mesmo ocorrendo com a produção de etileno.

A atividade da ACC sintase é o ponto regulatório mais importante na produção de etileno, sendo os teores dessa enzima afetados por mudanças ambientais, hormonais e por diversos eventos fisiológicos. O aumento na produção de etileno verificado em certas fases do desenvolvimento, como germinação, amadurecimento de frutos e senescência, ou em resposta a estresses, dentre os quais ferimentos mecânicos, seca, alagamento, geadas, infecções e agentes tóxicos, é acompanhado por uma elevação na síntese ou na ativação da ACC sintase.

A conversão de ACC a etileno é produzida por uma enzima oxidativa, mais recentemente conhecida como ACC oxidase (ACO), anteriormente denominada de enzima formadora de etileno (EFE). Essa enzima parece estar associada à membrana plasmática ou presente no apoplasto, como evidenciado através da técnica de imunolocalização.

A ACC oxidase também é codificada por uma família multigênica, havendo similaridade entre as enzimas em frutos de abacate, maçã, pêssego e tomates. Nestes últimos, as enzimas induzidas pelos genes *ptom13* e *ptom5* apresentam 88% de similaridade.

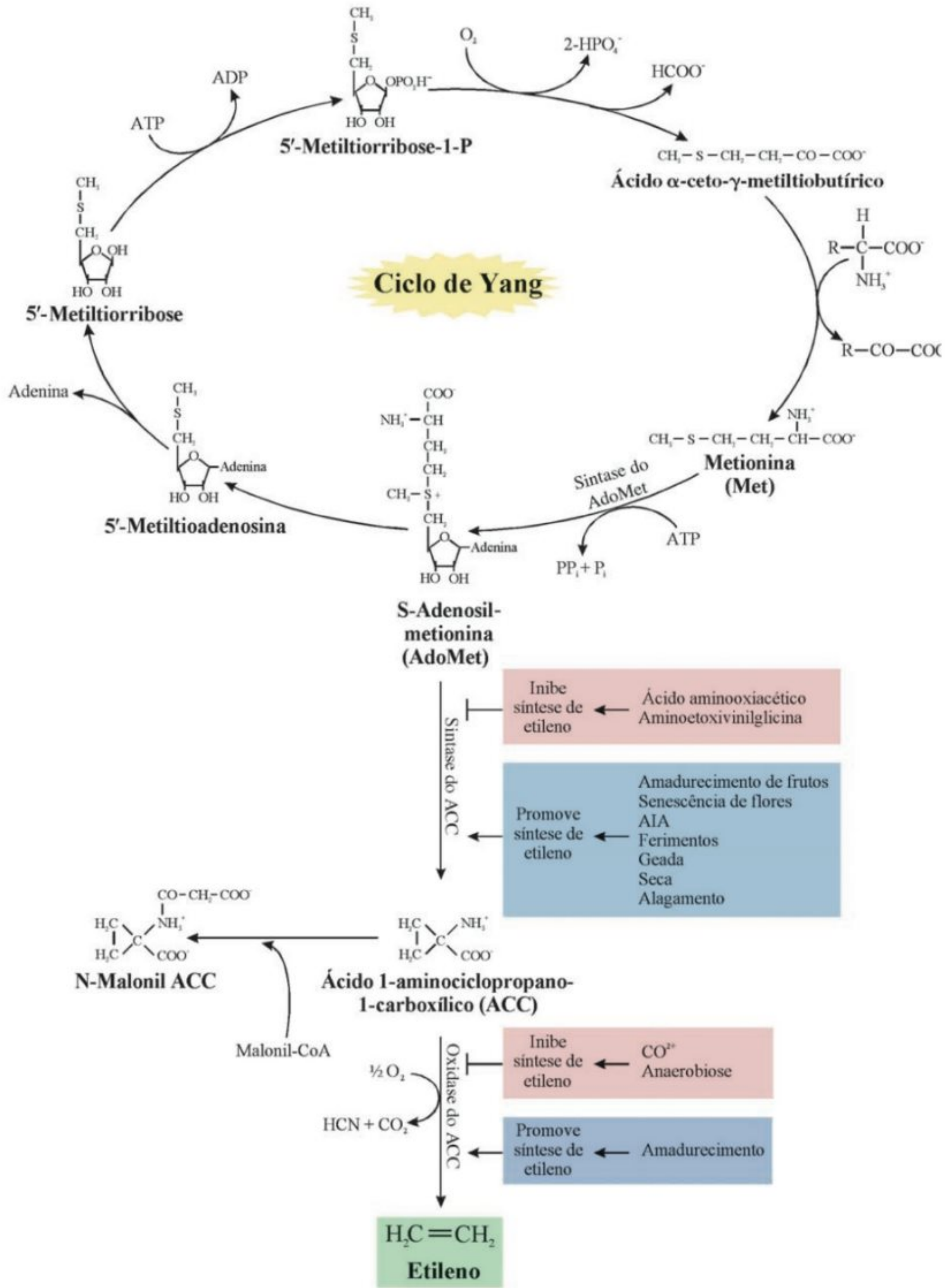
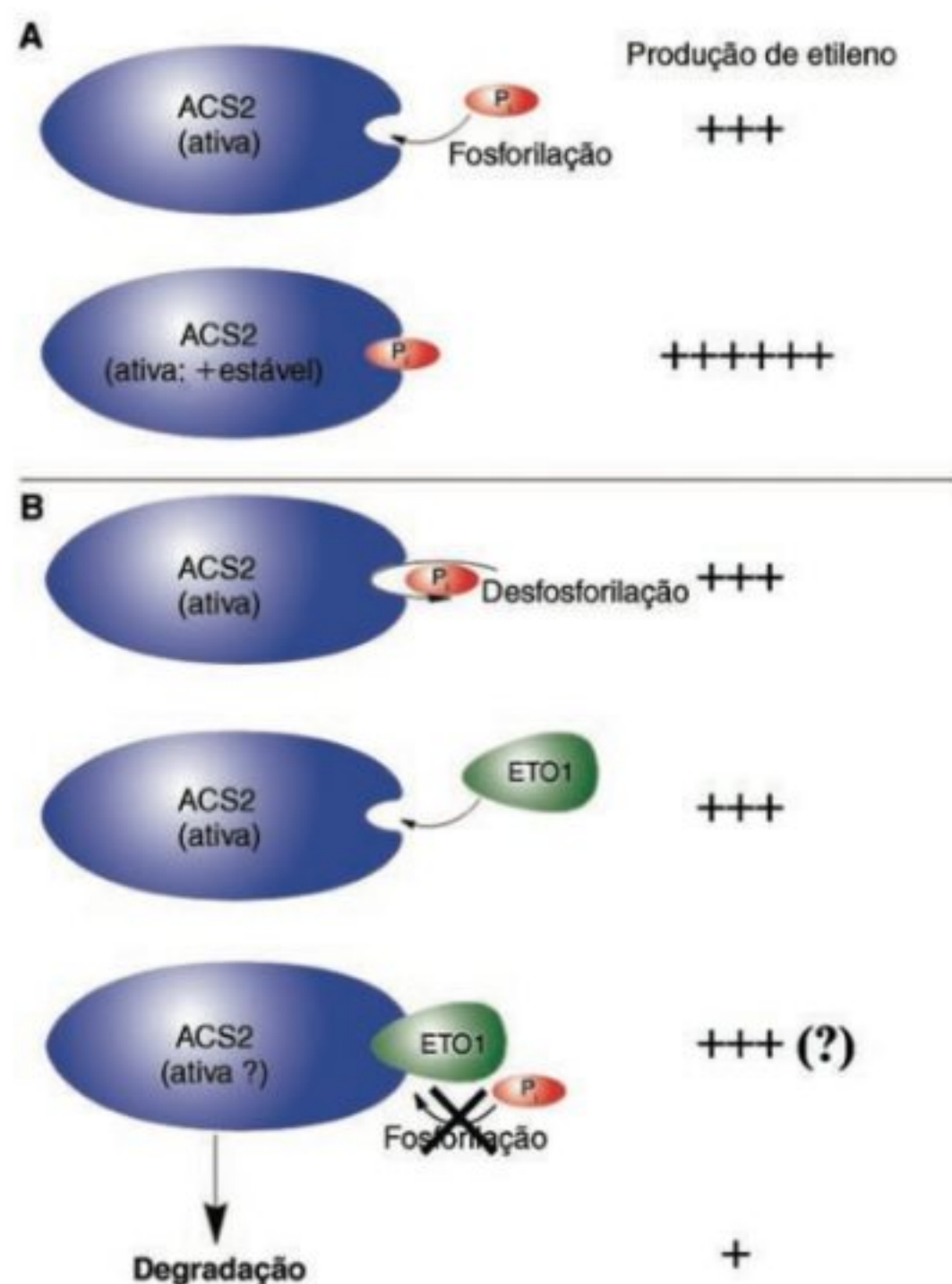


FIGURA 13.3

Via de biossíntese do etileno e ciclo de Yang. O aminoácido metionina é o precursor do etileno. A reação catalisada pela ACC sintase, que converte AdoMet a ACC, é uma reação limitante da via de biossíntese do etileno. O grupo CH₃-S da metionina é reciclado através do ciclo de Yang. O ACC pode ser conjugado formando o N-malonil ACC ou ser convertido em etileno. As substâncias AOA (ácido aminoacético) e AVG (aminoetoxivinilglicina) são inibidoras da síntese do etileno. (Modificada de Yang, 1981, e Yung *et al.*, 1982.)

**FIGURA 13.4**

Modelo de regulação da ACC sintase 2 (ACS2). Uma região da porção carboxi-terminal da proteína é fosforilada por uma cinase (ainda não identificada). Com isso, a enzima ganha maior estabilidade, e a produção de etileno é aumentada (Painel A). Sob a ação de uma fosfatase, o grupo fosfato é removido, permitindo a ligação da proteína ETO1. Ainda não há um consenso sobre a diminuição da atividade da ACS2 mediada por esta proteína, porém foi demonstrado que a enzima, ligada à ETO1, é reconhecida pelo sistema ubiquitina/proteossomo 26S e é degradada, provocando, assim, a diminuição dos níveis de etileno no tecido.

A ACC oxidase purificada de maçãs é um monômero com peso molecular de 35 kDa e uma enzima instável (meia-vida de 2 horas). Essa enzima necessita de ferro, ascorbato e CO_2 para a sua atividade, sendo a conversão de ACC em etileno inibida por benzoato de sódio, altas temperaturas, baixa oxigenação e íons cobalto (Co^{2+}).

As aplicações de algumas substâncias têm auxiliado nos estudos do etileno em diferentes processos biológicos nas plantas. Íons de prata (Ag^+), por exemplo, mostraram-se como inibidores potentes e específicos da ação do etileno, tendo como fontes principais nitrato e tiosulfato de prata. Outras substâncias, tais como o 2,5-norbornadieno (NBD), o diazociclopentadieno (DACP) e o 1-metilciclopropeno (1-MCP), também apresentam esse efeito inibitório. Estes compostos exercem seu efeito através da ligação com os receptores, bloqueando-os e impedindo a ligação do etileno. A prata, por sua vez, altera a capacidade dos recep-

tores em transduzir o sinal para os componentes seguintes da cadeia de sinalização (ver Mecanismo de Ação do Etileno, mais adiante).

Como ator de processos fisiológicos importantes do desenvolvimento vegetal, o etileno exerce vários efeitos comercialmente interessantes na agricultura. Entretanto, como se trata de um hormônio gasoso, sua aplicação sob condições de campo é difícil de ser realizada, sendo utilizado no seu lugar o ácido 2-cloroetilfosfônico — CEPA, também conhecido como Ethephon ou Ethrel. Essa substância, descoberta em 1960, é inerte sob pH inferior a 4; todavia, quando misturada em água e absorvida pela planta, libera etileno em pH fisiológico (Fig. 13.5).

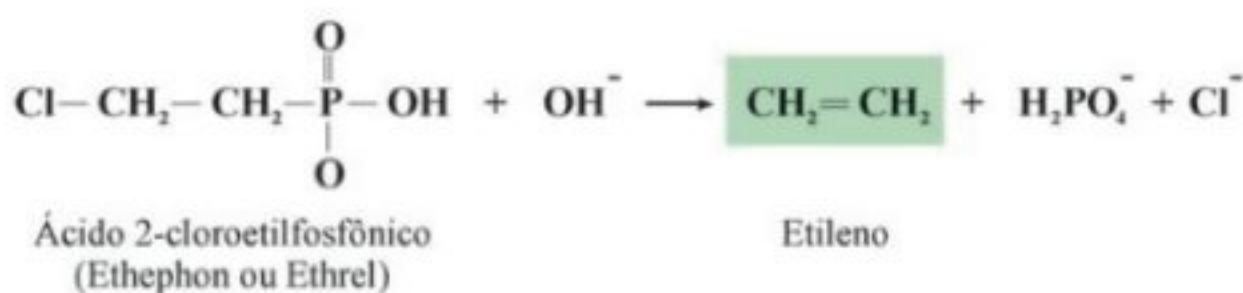
A solução aquosa de Ethrel é facilmente pulverizada nas plantas, sendo absorvida e transportada para os tecidos vegetais, representando um mecanismo eficiente de aplicação de etileno. Pode ser usada para estimular o amadurecimento de frutos de tomate e maçã, bem como na sincronização da floração em Bromeliaceae, destacando-se o abacaxizeiro (*Ananas comosus*) (ver Cap. 18, Floração).

TRANSPORTE DO ETILENO

O transporte do etileno, ao contrário dos demais hormônios vegetais, é independente de tecidos vasculares e de outras células. Como um gás, difunde-se facilmente no interior dos tecidos, através dos espaços intercelulares, podendo ser perdido para o ambiente. A água e os solutos do citoplasma dificultam o movimento do etileno, sendo o seu coeficiente de difusão, nestes, cerca de 10.000 vezes inferior ao do ar. Devido à sua afinidade com lipídios (14 vezes mais solúvel do que na água), o etileno é capaz de se difundir com relativa facilidade através da casca de alguns frutos, como a maçã (presença de ceras).

MECANISMO DE AÇÃO DO ETILENO

Os hormônios apresentam, freqüentemente, um efeito pleiotrópico, ou seja, diferentes tipos de células-alvo respondem ao mesmo conjunto de sinais através de mecanismos similares de percepção e transdução, porém seus programas moleculares são distintos.

**FIGURA 13.5**

Reação de liberação do etileno a partir do Ethrel.

Independentemente da diversidade de efeitos do etileno no desenvolvimento vegetal, seu mecanismo de ação envolve, num primeiro momento, a ligação a um receptor específico, seguido da ativação de uma ou mais vias de transdução de sinais, desencadeando então a resposta celular.

Um fenótipo altamente reprodutível encontrado em plântulas estioladas expostas ao etileno, denominado *resposta tríplice*, tem sido a base de muitos dos avanços no entendimento da percepção e transdução de sinal do etileno. Tal fenótipo compreende o intumescimento radial do hipocótilo, seu encurtamento e a exagerada curvatura do gancho apical (Fig. 13.1). A resposta tríplice tem sido usada na detecção de mutantes de plantas que apresentam respostas anormais quando expostas ao etileno. Estes mutantes têm sido divididos em dois tipos: mutantes insensíveis ao etileno e mutantes que apresentam a resposta tríplice, mesmo na ausência do hormônio (resposta tríplice constitutiva). Muitos biólogos têm utilizado bibliotecas de mutantes da planta modelo *Arabidopsis thaliana*, em grandes projetos de rastreamento para identificar alterações que possam levar à identificação dos elementos que compõem as vias de percepção e transdução de sinal do etileno.

Até o momento, pode-se dizer que dentre os hormônios vegetais, o etileno é o que possui a via de sinalização mais bem descrita, pois além dos receptores, vários outros componentes já foram identificados.

Receptores de etileno

Via de regra, um hormônio, para ser assim classificado, deve necessariamente interagir com uma molécula que funcionará

como receptora do sinal que ele medeia. A localização e a estrutura dos receptores hormonais nos organismos podem ser as mais diversas. Os receptores de etileno constituem as moléculas de percepção hormonal em plantas cujo entendimento mais avançou na última década. Sua estrutura guarda similaridade com os receptores de dois componentes e atividade de histidina cinase encontrados em bactérias, tendo sido encontrada também no receptor de citocininas (ver Cap. 10, Citocininas).

Trata-se de um homodímero, isto é, uma proteína formada por duas subunidades idênticas, cujas frações monoméricas estão interligadas por pontes dissulfeto que coordenam a associação de um íon de cobre (Fig. 13.6). Este íon parece ser essencial tanto para a ligação do etileno quanto para a transdução do seu sinal. Este é possivelmente o mecanismo pelo qual o íon de prata (Ag^+), sabidamente conhecido por inibir as respostas ao etileno, deve exercer sua ação. O íon prata é capaz de coordenar a ligação do etileno, porém não é capaz de induzir as alterações na conformação do receptor do mesmo modo que o íon cobre e, deste modo, é incapaz de transmitir o sinal no momento da ligação do etileno. Plântulas tratadas com Ag^+ mimetizam o fenótipo encontrado em plântulas de mutantes insensíveis ao etileno, ou seja, não apresentam a resposta tríplice, mesmo na presença do hormônio. Uma importante indicação do papel fundamental do íon cobre na ligação do etileno foi obtida pela análise do mutante de *A. thaliana* denominado *ran1*, que possui um transportador de cobre não-funcional e apresenta severa insensibilidade ao etileno.

Os receptores de etileno são classificados em duas grandes famílias. Os receptores da família I (ETR1 e ERS1) apresentam

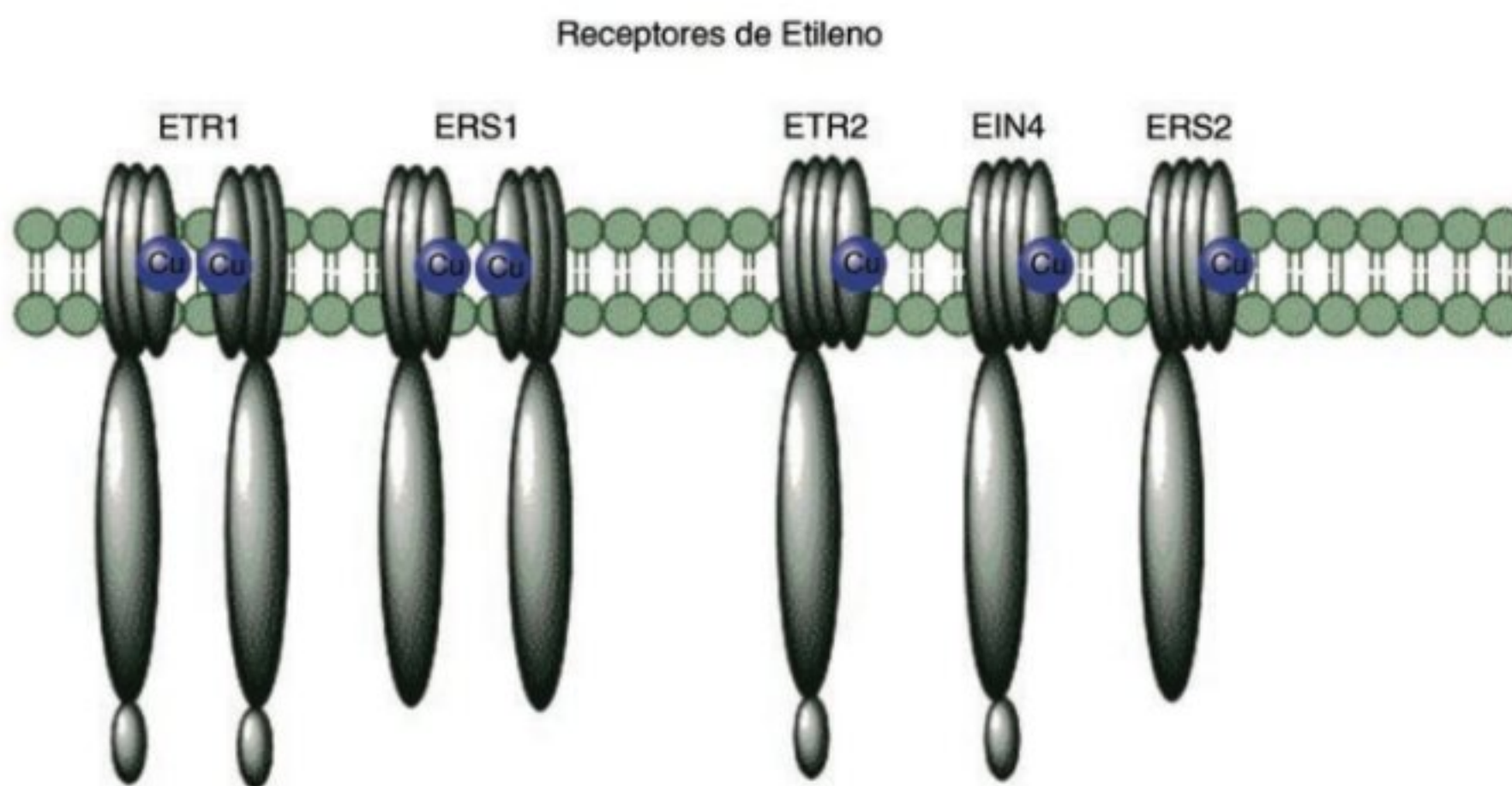


FIGURA 13.6

Receptores de etileno. Em *Arabidopsis thaliana* foram identificadas cinco proteínas que atuam como receptores de etileno. Os receptores ETR1 e ERS1 (subfamília I) possuem três domínios transmembrana, atividade de His cinase e formam homodímeros. Conforme estudo de fracionamento celular, foi observado que o receptor ETR1 está localizado na membrana do retículo endoplasmático. Os receptores ETR2, EIN4 e ERS2 (subfamília II) possuem quatro domínios transmembrana e não possuem aminoácidos essenciais para a atividade de His cinase. Aparentemente não formam dímeros. Todos os receptores possuem ao menos um átomo de cobre ligado a um dos domínios transmembrana, sendo este metal necessário para a ligação com o etileno. (Modificada de Wang *et al.*, 2002.)

as características de histidinas cinases em suas estruturas, ou seja, proteínas capazes de transferir grupos fosfato do ATP para resíduos de histidina em outras proteínas e, assim, promover a ativação ou desativação destas últimas. Este processo de ativação ou desativação por fosforilação é uma característica particular de cada proteína. Os receptores da família II (ETR2, ERS2, EIN4) não possuem atividade de histidina cinase.

As seqüências primárias de aminoácidos dos vários receptores de etileno apontam para a ocorrência de ao menos três domínios transmembrana nas suas estruturas, indicando que estes devem estar ancorados em membranas celulares. Ao menos um, o receptor ETR1, foi efetivamente localizado na membrana do retículo endoplasmático em células de folhas de *A. thaliana*. Embora esta localização não seja tão usual para um receptor, para o etileno não constitui nenhum obstáculo, dada a alta difusibilidade do hormônio tanto em meio aquoso como em meio lipídico, o que permite seu acesso ao sítio de ligação em qualquer compartimento celular.

Até o final da década de 1990, muitos estudos indicavam que a ocorrência de diferentes receptores em uma mesma célula teria unicamente uma função compensatória, sendo redundantes em sua ação, como no caso dos mutantes de *A. thaliana* exemplificados anteriormente. A modulação da resposta ao etileno seria, deste modo, obtida pela célula vegetal em função da quantidade de receptores que esta expressa.

Porém, isto parecia insuficiente para explicar por que as plantas ou órgãos vegetais, em certas situações, aumentam a expressão de um tipo específico de receptor, diminuindo a expressão de outros, e com isso apresentam maior sensibilidade ao etileno. Um exemplo desta situação é o amadurecimento dos frutos da bananeira. Pouco antes da colheita, o fruto expressa vários tipos de receptores de etileno de ambas as famílias. Nesta fase, a banana é pouco sensível ao etileno, sendo incapaz de amadurecer, mesmo com a aplicação do hormônio. Após a colheita e início do amadurecimento, o fruto se torna muito sensível ao hormônio e a aplicação de pequenas quantidades de etileno é suficiente para acelerar o amadurecimento. Este fato é acompanhado de um aumento na expressão do receptor ETR1 e decréscimo na expressão de receptores da família II, porém, sem mudança aparente no nível global dos receptores.

Para buscar uma possível explicação para observações deste tipo, a capacidade em “reter” o hormônio foi correlacionada aos níveis de expressão gênica de cinco receptores identificados em tomate, a fim de verificar se haveria alguma diferença de afinidade entre cada receptor e o hormônio. Em caso positivo, a diferença de sensibilidade do órgão ou tecido poderia ser atribuída aos níveis de um ou outro tipo de receptor.

Os resultados não indicaram diferenças significativas quanto à capacidade de retenção do etileno, porém alguns tipos de receptores apresentaram variações significativas dos níveis de transcrição durante o amadurecimento do fruto. Estudando mutantes defectivos em um dos receptores, foi possível observar o aumento no nível de transcrição dos receptores remanescentes, corroborando a existência do mecanismo de compen-

sação para a falta de um receptor. Neste mesmo estudo, plantas mutantes de *A. thaliana* também foram analisadas e obtiveram-se resultados semelhantes. Porém, alguns destes mutantes apresentavam defeitos de desenvolvimento, como uma expressiva diminuição do tamanho das lâminas foliares. Visto que as plantas mutantes tinham a mesma capacidade de “ligar” o etileno, por que estas não respondiam da mesma forma ao hormônio? A conclusão, neste caso, indicava que a diminuição de um tipo específico de receptor poderia induzir diferenças específicas na resposta ao hormônio.

Portanto, outra explicação residiria na capacidade de cada receptor em transmitir o sinal para o interior da célula, após a ligação com o hormônio. Assim, os estudos foram direcionados para os elementos subseqüentes na cascata de transdução de sinal do etileno, principalmente a proteína CTR1. Estudos demonstraram que cada receptor possui diferentes graus de afinidade pela proteína CTR1 e com isso transmitem o sinal enviado pelo etileno de modo diferenciado.

Ou seja, as diferenças de sensibilidade dos diferentes órgãos e células ao etileno, em diferentes momentos do desenvolvimento vegetal, podem ser atribuídas à expressão de diferentes conjuntos de receptores de etileno.

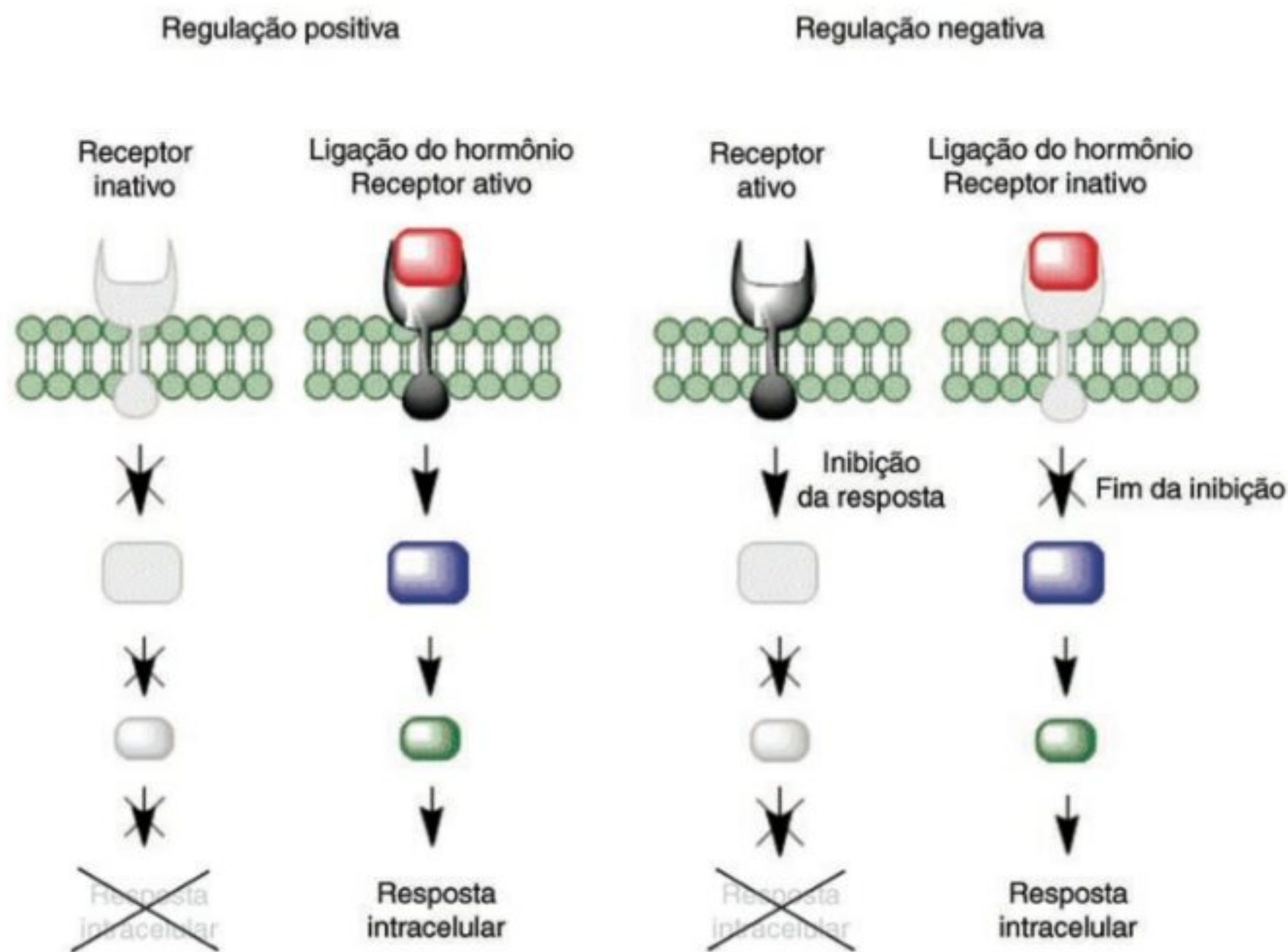
Proteína CTR1

O gene *ctr1* codifica para uma proteína similar a membros da família das Raf serina/treonina cinases, mais especificamente uma MAPKKK (do inglês *mitogen-activated protein kinase kinase kinase*). O nome *ctr1* deriva de um mutante de *A. thaliana* que apresentava a resposta tríplice independentemente da presença de etileno (*ctr1* — *constitutive triple response 1*). Este comportamento indicou que a proteína (CTR1), codificada pela forma dominante desse gene (CTR1), provavelmente seria um regulador negativo da resposta ao etileno.

De maneira geral, em um modelo de resposta positiva (Fig. 13.7), a via de sinalização encontra-se desativada na ausência do hormônio. No momento em que ocorre a ligação do hormônio com o receptor, são provocadas alterações neste último, ativando-o e promovendo sua atuação sobre os elementos que se encontram em seqüência na cascata de sinalização hormonal, levando à manifestação das respostas intracelulares.

Por outro lado, em um modelo de regulação negativa, na ausência do hormônio a proteína ou o complexo protéico que forma o receptor está ativamente *inibindo* os elementos que se encontram em seqüência na cascata de sinalização. Conseqüentemente, nenhuma resposta associada ao hormônio é observada. A ligação do hormônio ao receptor desativa este último, liberando os elementos da cadeia de sinalização, que, por seu turno, induzem o aparecimento das respostas celulares (Fig. 13.7).

Neste modelo, o mecanismo de ação envolveria a capacidade de a CTR1 interagir com o domínio de histidina cinase dos receptores de etileno. O modelo mais aceito supõe que a proteína CTR1 deve interagir com os receptores para que

**FIGURA 13.7**

Regulação positiva e negativa na resposta hormonal. No modelo mais comumente encontrado, a regulação positiva, o receptor hormonal está inativo, assim como os elementos da cascata de sinalização, não havendo resposta intracelular. Com a ligação do hormônio no receptor são desencadeadas mudanças neste último, tornando-o ativo. O receptor passa a ativar os elementos da cascata e são observadas as respostas intracelulares. No modelo de regulação negativa, o receptor encontra-se ativo na ausência do hormônio e sua atividade inibe os componentes da cascata de sinalização. A ligação do hormônio inativa o receptor, liberando a cascata de sinalização, e deste modo são promovidas as respostas celulares.

sua atividade de cinase seja efetiva e, desta forma, fosforile substratos na seqüência da cadeia de transdução de sinal (Fig. 13.8). Uma vez que o etileno liga-se aos receptores, mudanças conformacionais promoveriam o desligamento da proteína CTR1, provocando a inibição de sua atividade e, assim, liberando a via de transdução e permitindo as respostas ao etileno.

As observações que possibilitaram a proposição deste modelo vieram principalmente de estudos que visaram isolar o receptor ETR1 e, inesperadamente, isolaram também a proteína CTR1 ligada a este, indicando a interação entre as duas proteínas. Adicionalmente, foi observado que uma região da proteína CTR1, envolvida na ligação com o receptor, é capaz de interagir com o domínio de serina/treonina cinase da própria CTR1. Este parece ser o mecanismo pelo qual, após estar desligada do receptor, devido à presença do etileno, a proteína CTR1 é inibida (Fig. 13.8).

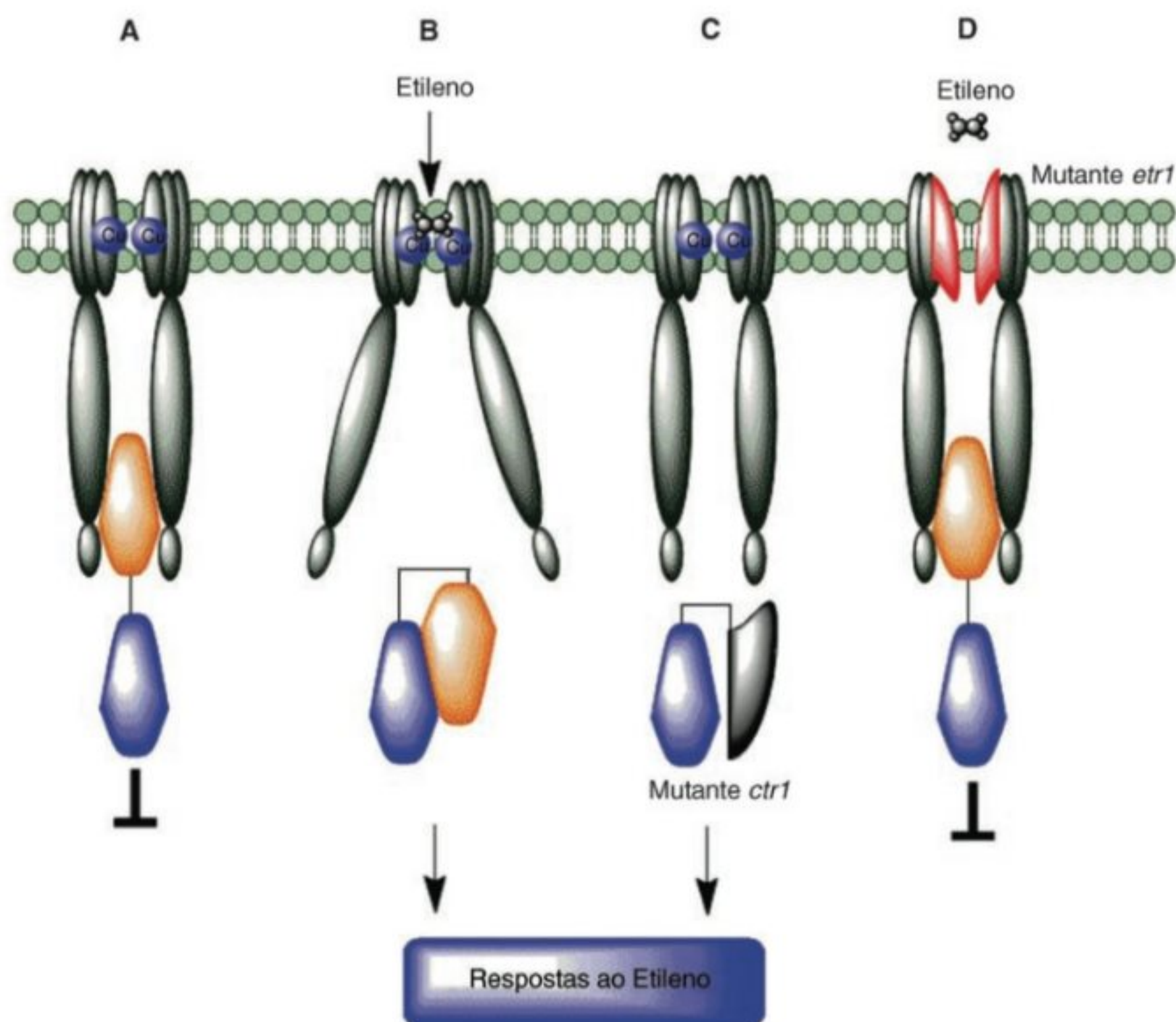
A análise mais detalhada da estrutura da proteína nos mutantes *ctr1* de *A. thaliana* indicou que esta é incapaz de interagir com o receptor e, por isso, estes mutantes apresentam um fenótipo de respostas ao etileno mesmo na sua ausência. Por outro lado, certas mutações nos receptores mostram um fenótipo de insensibilidade

ao hormônio, uma vez que o etileno não é capaz de ligar-se ao receptor e desligar a proteína CTR1 (Fig. 13.8).

Demais componentes na via de sinalização

Embora vários genes e as proteínas por eles codificadas tenham sido identificadas como componentes na cadeia de sinalização do etileno, ainda não se sabe como ocorrem as interações entre estes diversos elementos. O que se conhece é a seqüência em que estas proteínas atuam para promover a sinalização e induzir as respostas à presença do etileno.

A similaridade entre a proteína CTR1 e as MAP cinases de mamíferos indicou o possível envolvimento de uma cascata destas proteínas na sinalização do etileno. Em mamíferos, estas proteínas atuam realizando fosforilações sucessivas, sendo que uma MAPKKK fosforila uma MAPKK e a ativa. Esta, por sua vez, fosforila uma MAPK; esta cinase, assim ativada, fosforila uma proteína pela qual possui especificidade. A natureza desta última proteína é variável, pois depende da via de sinalização na qual as MAP cinases estão envolvidas. Existem dezenas de diferentes

**FIGURA 13.8**

Modelo de interação entre a proteína CTR1 e o receptor ETR1. Na ausência do hormônio (A), o receptor encontra-se ligado à proteína CTR1. Esta, por meio de sua atividade de cinase, exerce inibição sobre outros elementos na cadeia de transdução de sinal do etileno, não havendo resposta ao hormônio. A ligação do etileno com o receptor ETR1 (B) provoca modificações na sua estrutura que levam ao desacoplamento da proteína CTR1. Porções do domínio N-terminal da CTR1 são capazes de interagir com o seu próprio domínio cinase e podem contribuir para a redução desta atividade na proteína. Além disso, sem interagir com o receptor, a atividade de cinase de CTR1 é muito reduzida. Com isso, a repressão aos elementos da cascata de transdução de sinal do etileno é removida e as respostas ao hormônio ocorrem. Mutações na proteína CTR1 (C) que impeçam sua interação com o receptor levam a um fenótipo de resposta constitutiva, mesmo na ausência de etileno. Por sua vez, mutações no receptor (D) que impeçam a ligação do etileno levam a um fenótipo de insensibilidade e à ausência de respostas, mesmo na presença do hormônio. (Modificada de Chen *et al.*, 2005.)

MAP cinases e estas estão ligadas às mais diversas formas de sinalização intracelular em mamíferos.

Em *A. thaliana* e *Medicago truncatula*, foram identificados membros das MAP cinases atuando, subseqüentemente à CTR1, na via de sinalização do etileno (Fig. 13.9). As proteínas SIMKK (*Stress Induced MAP Kinase Kinase*), MAPK6 (ambas em *A. thaliana*) e MAPK13 (em *M. truncatula*) foram identificadas por meio de ensaios de atividade de proteínas cinase ou por inibição de sua expressão gênica.

Outro elemento da via de sinalização de etileno é codificado pelo gene *EIN2* (*Ethylene Insensitive 2*) e é considerado central na sinalização do hormônio, visto que mutantes para este gene apresentam fenótipos severos de insensibilidade, com conseqüências que afetam a planta durante todo seu ciclo de vida. As evidências sugerem que o gene *EIN2* codifica para uma proteína que atua como um regulador positivo essencial para a sinalização do etileno.

O elemento EIN2 foi identificado como uma proteína de membrana cujo domínio N-terminal hidrofóbico se assemelha aos membros da família NRAMP de proteínas integrais de membranas, a qual inclui vários transportadores de metais.

O elemento identificado como subseqüente à proteína EIN2 na cadeia de sinalização do etileno é a proteína EIN3. Vários mutantes defectivos para esta proteína apresentam expressão reduzida de genes tipicamente etileno-dependentes. Outras proteínas similares foram identificadas em várias espécies vegetais, sendo denominadas EILs (*EIN3-like*). Dois membros dessa família, EIL1 e EIL2, são capazes de resgatar o fenótipo normal de resposta ao etileno em mutantes que têm o gene *ein3* defeituoso. Já a superexpressão destes dois genes leva ao fenótipo de resposta constitutiva ao hormônio, indicando que estes elementos são reguladores positivos da resposta ao etileno.

As proteínas desta família desempenham funções de fatores de transcrição, ligando-se a elementos reguladores da expressão

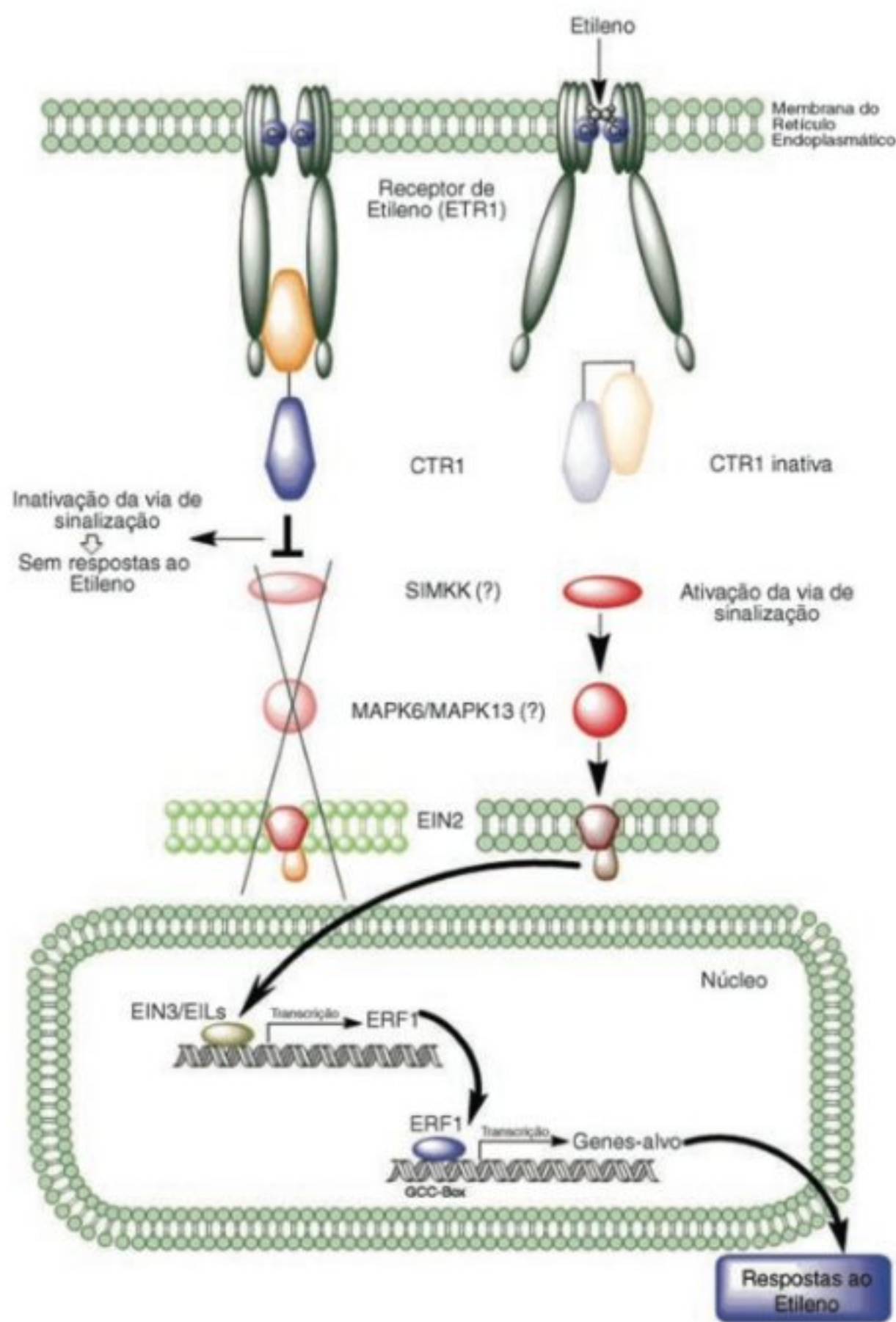


FIGURA 13.9

Modelo da via de transdução de sinal do etileno. Na ausência de etileno (esquerda) os receptores interagem com uma proteína do tipo Raf-quinase denominada CTR1. Esta interação ativa a proteína CTR1 fazendo com que esta regule negativamente (por fosforilação) componentes situados abaixo na cascata de transdução de sinal. Dentre os possíveis alvos, já foram identificadas, em *Arabidopsis thaliana*, proteínas da família das MAP cinases. Deste modo, não ocorrem respostas relacionadas ao etileno. A ligação do hormônio ao receptor (direita) induz mudanças conformacionais neste último desativando a proteína CTR1. Desta forma, a cascata de MAP cinases fica livre da inibição, permitindo que o elemento regulador EIN2 sinalize positivamente para os fatores de transcrição da família EIN3. Estes, por sua vez, ativam a transcrição dos fatores ERF que promovem a transcrição de genes alvo, tipicamente ativados pelo etileno (os genes das β -1,3 glucanases, por exemplo) e que mediarão as respostas fisiológicas características promovidas pelo hormônio. (Modificada de Wang *et al.*, 2002.)

presentes nos promotores de genes responsivos ao etileno e promovendo a transcrição do RNA mensageiro destes genes (Fig. 13.9). Particularmente, genes denominados fatores de resposta

ao etileno (ERFs — *Ethylene Response Factors*) são os alvos das proteínas EIN3 e EILs.

No último nível da sinalização do etileno encontram-se os fatores de transcrição ERF e EDFs (*ethylene response DNA binding factors*). São proteínas de baixo peso molecular que possuem especificidade quanto à ligação em promotores de genes regulados por etileno. As regiões do DNA às quais as proteínas ERFs e EDFs ligam-se foram denominadas *GCC-box*, devido às repetições de guanina e citosina encontradas nestas seqüências. A expressão de um membro desta família, ERF1, encontrado em *A. thaliana* parece regular a transcrição de vários genes, visto que sua superexpressão é capaz de produzir, de modo significativo, um fenótipo de resposta constitutiva ao etileno.

Uma grande variedade de genes mostrou possuir motivos *GCC-box* em seus promotores, porém muitos destes genes não são exclusivamente regulados por etileno, apresentando vários outros motivos regulatórios ligados, por exemplo, a respostas a estresses abióticos (frio, seca, salino), injúrias mecânicas ou danos por patógenos. Como exemplos de genes que são regulados por etileno, foram identificados aqueles que codificam para isoformas de quitinases, fitoeno sintase, β 1,3-glucanases, algumas proteínas relacionadas a patógenos (PRPs), algumas isoformas de expansinas e as enzimas de biossíntese do próprio etileno, ACC sintase e ACC oxidase, entre outros.

INTERAÇÃO DO ETILENO COM OUTROS HORMÔNIOS

Vários sinais contribuem para coordenar os processos necessários ao desenvolvimento e manutenção da homeostase nos diversos tecidos vegetais. A relação entre níveis de dois ou mais hormônios durante as diversas fases do ciclo de vida das plantas é conhecida há muito tempo. Porém, somente os avanços técnicos registrados nas últimas décadas permitiram obter uma visão mais detalhada sobre os mecanismos moleculares envolvidos nestas interações.

De modo geral, um hormônio pode afetar as respostas de outro hormônio de três modos: afetando os níveis do outro hormônio por meio de alterações de sua biossíntese, degradação, transporte ou conjugação; modificando sua resposta aos estímulos ambientais ou do desenvolvimento; alterando os níveis e/ou atividade de elementos de sua via de transdução de sinal.

As interações entre o etileno com outras classes hormonais não indicam um modo preferencial para um dos três níveis descritos. A interação mais notadamente descrita na literatura ocorre com auxinas e jasmonatos. Porém, há vários relatos de interações do etileno com outras classes hormonais.

Auxinas

O efeito indutor na síntese de etileno promovido por auxinas é conhecido há muitos anos, assim como o efeito do etileno sobre o transporte de auxinas (ver Cap. 9, Auxinas).

No primeiro caso, vários estudos demonstraram que as auxinas são capazes de aumentar a expressão do gene de uma ou mais isoformas da ACC sintase. Em *A. thaliana* a isoforma ACS4 está diretamente relacionada com a indução por auxina. O papel desempenhado pelo aumento de etileno dependente de auxina ainda não é claro, porém estudos sugerem uma ligação entre o alongamento caulinar e estes dois hormônios. A chave para a hipótese provém de vários mutantes com respostas alteradas tanto para um como para outro hormônio.

Embora alguns estudos tenham demonstrado que o intumescimento radial do hipocótilo em plântulas de *A. thaliana* e nos entrenós de tulipas seja mediado por altos níveis de etileno, um mutante denominado hipocótilo longo relacionado a ACC-1 (*ACC-related long hypocotyl 1 — alh1*) apresentou aumento no comprimento do hipocótilo quando crescido sob luz, em meio sem a presença do etileno. A análise mais detalhada da natureza desta mutação identificou que estas plantas produzem altas quantidades de etileno, o que estaria ligado ao fenótipo de hipocótilo alongado. Coincidentemente, foi observado que estas plantas também apresentavam defeitos no transporte de auxina no hipocótilo e, desta forma, o fenótipo encontrado nas plantas mutantes seria derivado tanto dos efeitos da superprodução de etileno quanto das conseqüências desta sobre o transporte de auxinas.

Outros mutantes de *A. thaliana* defectivos no transporte de auxina, como *aux1* e o *eir1*, cujas mutações ocorrem em genes que codificam para proteínas envolvidas no influxo e no efluxo deste hormônio, também apresentam insensibilidade ao etileno. Por outro lado, no mutante com alta taxa de resposta ao etileno, *eer1* (*ethylene enhanced response 1*), foi observada maior taxa de transporte basipetal de auxina. Tais resultados são evidências claras da existência de uma inter-relação entre a sinalização do etileno e auxina no controle de processos celulares ligados ao desenvolvimento vegetal.

Outras evidências que vêm se tornando mais consistentes nos últimos anos dizem respeito ao amadurecimento de frutos, processo no qual o etileno sempre foi tido como o principal hormônio regulador. Embora o efeito inibidor das auxinas sobre o amadurecimento de frutos seja conhecido há décadas, não havia evidências moleculares referentes a este processo. Com a descoberta dos fatores de transcrição relacionados a auxinas (ARFs — *auxin response factors*), observou-se que vários destes têm a expressão aumentada em tomates e outros frutos tratados com etileno.

Estudos clássicos conduzidos por Nitsch na década de 1950 demonstraram que para o amadurecimento do receptáculo no morango é necessário que haja a diminuição da produção de auxina pelo aquênio. Até recentemente, acreditava-se que este evento fosse o principal coordenador do amadurecimento neste fruto. Porém, ao tratar morangos com o 1-metilciclopropeno, um potente antagonista do etileno, observou-se que estes não perdiam firmeza durante o amadurecimento e também não desenvolviam o aroma típico do fruto maduro, indicando que, além da auxina, o etileno exerce também um papel no amadureci-

mento do morango. Frutos como este, denominados pela fisiologia pós-colheita como não-climatéricos, eram tidos, até pouco tempo, como independentes de etileno para amadurecer. Além do morango, outros frutos demonstraram ter processos dependentes de etileno para o amadurecimento normal, como as uvas, frutas cítricas e as cerejas.

Outro processo que sugere a inter-relação entre os níveis de etileno e auxinas, no caso o ácido indol-3-acético (AIA), implica o processo de abscisão de folhas (descrito em maiores detalhes no tópico Abscisão, mais adiante).

Citocininas

Um aumento de 2 a 4 vezes na produção de etileno tem sido registrado em plantas tratadas com citocininas, conforme foi observado em segmentos de folhas de milho, alface, arroz e trigo, de hipocótilo de soja e em raízes isoladas de milho após 6 a 9 horas da aplicação hormonal. Em alguns casos, a produção desse gás chegou a aumentar até 50 vezes, como em folhas de algodoeiro.

A aplicação de citocininas e de auxinas resulta em uma produção de etileno muito maior do que quando esses hormônios são aplicados isoladamente. Esse efeito sinérgico, associado a uma maior atividade da ACC sintase e, conseqüentemente, à produção de ACC, foi observado em sementes de pepino, segmentos de folhas de trigo e dália e em plântulas estioladas de ervilha.

Dois mutantes de *A. thaliana* denominados *insensível a citocinina 5* (*cytokinin insensitive 5 — cin5*) e o *superprodutor de etileno 2* (*ethylene overproducer 2 — eto2*) foram identificados como alelos para a isoforma 5 da ACC sintase (ACS5). A mutação encontrada em *eto2* foi identificada como a perda da maior parte da porção carboxi-terminal da ACS5, resultando em aumento da meia-vida desta proteína. Esta mutação leva à produção de altos níveis de ACC e, conseqüentemente, de etileno. Interessante notar que o tratamento com citocininas também é capaz de promover maior estabilidade da proteína ACS5, o que sugere que mecanismos pós-tradução podem ser os responsáveis pelo aumento de etileno mediado por citocininas (ver modelo anteriormente descrito em Biossíntese e Inativação).

Giberelinas

As interações entre o etileno e as giberelinas têm implicado tais hormônios na regulação dos processos de alongamento celular e também na indução floral. O principal ponto de conexão entre estes dois hormônios refere-se à estabilidade das proteínas DELLA. Tais elementos são repressores nucleares das respostas às giberelinas relacionadas ao alongamento celular. O nome DELLA deriva da sigla dos cinco primeiros aminoácidos de um total de 17 da porção N-terminal da proteína, caracterizando um domínio muito conservado deste tipo de proteína repressora.

Embora não esteja totalmente claro o mecanismo pelo qual estas proteínas atuam, foi demonstrado que as giberelinas, quando em altas quantidades no tecido vegetal, influenciam a degradação das proteínas DELLA por meio do sistema ubiquitina/proteossomo 26S. As giberelinas, por meio da ativação de um mecanismo de fosforilação das proteínas DELLA, tornam-nas alvos suscetíveis à interação com proteínas específicas e à subsequente ubiquitinação/degradação.

Contudo, observou-se que plântulas de *A. thaliana* tratadas com etileno atenuam os efeitos das giberelinas, promovendo a maior estabilidade nas proteínas DELLA que, por sua vez, inibem processos nos quais o alongamento celular é necessário, como a formação do gancho apical.

Em relação à indução floral, estudos demonstraram que o etileno é capaz de atrasar o tempo de floração por meio de um mecanismo que também envolve a manutenção dos níveis das proteínas DELLA. O tratamento de plantas de *A. thaliana* com etileno promoveu a diminuição dos níveis de giberelinas, diminuindo a taxa de degradação destas proteínas. Além disso, neste sistema também foi observado o maior acúmulo de proteínas DELLA por um mecanismo dependente do fator de transcrição EIN3, sugerindo um papel mais direto do etileno na expressão destas proteínas. As proteínas DELLA induzidas por etileno, desta forma, são tidas como responsáveis pela repressão de genes ligados ao desenvolvimento floral, como o *LEAFY (LFY)* e o *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1)*.

Outra evidência deste mecanismo foi obtida por meio do mutante *ctr1* de *A. thaliana*, que apresenta fenótipo de resposta constitutiva ao etileno. Este mutante apresenta tempo de floração tardio, mesmo quando exposto a fotoperíodos de dias longos. O tratamento com ácido giberélico foi capaz de abolir o efeito da mutação no gene *CTR1*, promovendo a floração no mutante no mesmo tempo que plantas normais.

Ácido abscísico

Dentre os efeitos relatados sobre a interação com o ácido abscísico (ABA), o mais conhecido é o efeito promotor na síntese do etileno após a aplicação de ABA. Este efeito tem sido observado principalmente em frutos, incluindo manga, abacate, maçãs e pêras. Também foi observado que frutos sintetizam ABA nos estágios mais avançados do amadurecimento.

A indução na síntese de etileno promovida por ABA ocorre principalmente através do estímulo na expressão de isoformas da ACC oxidase. Recentemente, foi descrito que em maçãs o tratamento com ABA foi capaz de promover aumento na transcrição do gene de uma isoforma da ACC sintase.

Embora o ABA venha sendo considerado um hormônio ligado ao amadurecimento dos frutos, seu exato papel neste processo e quais respostas específicas são mediadas pelo hormônio ainda não foram totalmente esclarecidos. No entanto, algumas destas respostas começaram a ser identificadas. Em experimentos realizados com laranjeiras mutantes da cultivar Navilite, que são

deficientes para a produção de ABA e não desenvolvem coloração característica no fruto maduro, o fenótipo selvagem foi restaurado quando o fruto foi tratado com ABA. Curiosamente, o fruto selvagem, quando tratado com inibidores de ação do etileno, desenvolveu o mesmo fenótipo do fruto mutante. Os resultados sugerem uma possível correlação entre os níveis dos dois hormônios para o desenvolvimento da cor nesta variedade de laranjas.

Observações adicionais no mutante *ein2* de *A. thaliana* indicam que etileno e ABA devem compartilhar componentes em suas vias de sinalização. Neste mutante, em ensaios de germinação, foi observado, além da insensibilidade ao etileno que o caracteriza, uma hipersensibilidade ao ABA. Por outro lado, em ensaios para alongamento de raízes, este mutante demonstrou alta resistência ao ABA.

Etileno

Dependendo do tecido vegetal, a aplicação de etileno pode induzir a autocatálise ou a auto-inibição desse hormônio. Durante o amadurecimento de frutos, a aplicação de etileno induz sua autocatálise (retroalimentação, processo pelo qual a presença do produto realimenta sua síntese), promovendo a conversão de ACC a etileno. Por outro lado, no processo de auto-inibição, há um bloqueio na síntese de ACC através de uma diminuição na atividade da ACC sintase (ver Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento).

Jasmonatos

Tanto o etileno quanto os jasmonatos, principalmente o ácido jasmônico e o metil-jasmonato, são hormônios que desempenham importantes papéis na modulação das respostas de defesa das plantas ao ataque de patógenos. Já foram descritas várias interações positivas e negativas entre ambos, e vários mutantes insensíveis tanto a um quanto a outro hormônio possuem maior susceptibilidade ao ataque de patógenos.

Um dos exemplos mais claros dessa interação e, possivelmente, da interação do etileno com outro hormônio diz respeito à regulação do gene *PDF1-2*. O produto codificado por este gene pertence à família das defensinas, pequenas proteínas que possuem a capacidade de se ligar à parede celular de fungos e bactérias promovendo a abertura de poros e ocasionando a morte do microrganismo. Tais proteínas são encontradas também em mamíferos e insetos.

O gene *PDF1-2* é induzido tanto por etileno quanto por jasmonatos. Porém, mutantes insensíveis ao etileno, quando tratados com metil-jasmonato não apresentam indução da transcrição deste gene. Da mesma forma, mutantes insensíveis a jasmonatos, quando tratados com etileno, não apresentam acúmulo do mRNA de *PDF1-2*, indicando que é necessário que as vias de sinalização de ambos os hormônios estejam em funcionamento para que haja aumento na transcrição desse gene.

Estudos posteriores identificaram o fator de transcrição ERF1 como o ponto comum de regulação de ambos os hormônios

sobre o gene. A superexpressão de ERF1 induziu a expressão constitutiva do gene *PDF1-2*, mesmo em plantas insensíveis a etileno ou jasmonatos. Estes resultados sugerem que o fator ERF1 pode ser o componente de sinalização necessário para a integração das respostas de defesa mediadas pelo etileno em conjunto com os jasmonatos. O apoio a esta hipótese vem da recente observação em folhas de *A. thaliana* sobre o gene de uma quitinase básica, enzima tipicamente ligada a processos de defesa nas plantas, cuja expressão também é dependente do fator ERF1 e é induzido conjuntamente por etileno e jasmonatos.

FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS

Temperatura

A temperatura ótima para a produção de etileno é de cerca de 30°C, havendo uma diminuição na sua síntese sob temperaturas mais elevadas, até um valor máximo próximo a 40°C. Assim, em maçãs, ocorre um aumento linear na produção de etileno entre 25 e 30°C, declinando linearmente entre 30 e 40°C. Sob temperaturas elevadas a ACC oxidase é inativada, possivelmente devido à sua localização nas membranas ou no apoplasto. Entretanto, a atividade da ACC sintase não é prejudicada por temperaturas elevadas, ocorrendo acúmulo de ACC.

Temperaturas extremas, tanto baixas (geadas) quanto elevadas (40°C), podem gerar estresse, levando à síntese de etileno. Plantas tropicais e subtropicais são mais sensíveis à geada, enquanto as de clima temperado mostram-se mais tolerantes. Plantas menos tolerantes submetidas a baixas temperaturas, quando novamente colocadas sob temperaturas moderadas, passam a produzir etileno em resposta ao estresse, resultando, por exemplo, na abscisão prematura de frutos.

Luz

Os efeitos da luz na produção de etileno são dependentes da qualidade e quantidade luminosa e dos tecidos vegetais envolvidos, podendo haver promoção, inibição ou nenhuma resposta sobre a síntese desse hormônio. A luz inibe a produção de etileno em tecidos verdes, conforme observado em plantas intactas de soja submetidas ou não a estresses, em segmentos de tomate, soja e em girassol e em folhas de trigo, arroz e tabaco. A manutenção da clorofila em folhas destacadas de arroz decorre principalmente da inibição da síntese de etileno provocada pela luz.

Em amendoim rasteiro, na presença de luz, as gemas crescem horizontalmente, e quase verticalmente quando no escuro, quando a produção de etileno é cerca de três vezes mais elevada. Esses resultados sugerem o envolvimento do etileno, de alguma forma, na orientação do crescimento caulinar de plantas rasteiras.

Baixas intensidades luminosas podem estimular a síntese de etileno e induzir a abscisão foliar em plantas sensíveis à sombra,

como em alguns cultivares de pimenta. Sob alta intensidade luminosa natural, foi observado um aumento de 2 a 100 vezes na produção de etileno durante o desenvolvimento de inflorescência das orquídeas *Catasetum* e *Cycnoches*, coincidindo com uma maior formação de flores femininas. Semelhante ao que já tinha sido verificado em Cucurbitaceae, o etileno pode atuar como um hormônio de feminilização também em algumas orquídeas. A luz também pode causar um aumento na produção de etileno em bromélias, estimulando a floração em *Aechmea victoriana*.

Oxigênio

O oxigênio é necessário para a produção de etileno nas plantas, uma vez que a conversão do ACC a etileno é dependente da atividade de uma oxidase: a ACC oxidase. Em frutos climatéricos como maçãs, bananas, pêras, assim como em flores de cravos e orquídeas, a produção de etileno pode ser inibida por baixas concentrações de O₂, razão pela qual baixos teores de O₂ são usados em câmaras de atmosfera controlada para armazenamento de frutos por longos períodos (ver Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento).

CO₂

Os efeitos do CO₂ na síntese de etileno são dependentes do tecido vegetal. A ação antagônica do CO₂ em relação ao etileno possibilita o armazenamento de frutos climatéricos em câmaras com concentração elevada de gás carbônico. Quando frutos de pêsego e maçã são transferidos para um ambiente enriquecido de CO₂ (40%), não se observa a produção de etileno, sendo a taxa respiratória reduzida a cerca da metade. Entretanto, plantas de milho e folhas de aveia, tabaco e arroz expostas a concentrações elevadas de CO₂ tiveram a produção de etileno aumentada, resultante de uma maior atividade ou síntese da ACC oxidase.

Alagamento

O alagamento é um estresse definido como a presença de água no solo além da capacidade de campo. A água em excesso pode asfixiar as raízes das plantas terrestres, devido a uma redução ou eliminação do oxigênio do solo, impedindo as trocas gasosas entre as raízes, a rizosfera e o ambiente aéreo.

Dentre os cinco hormônios clássicos, o etileno tem sido associado às respostas das plantas sob condição de alagamento. Esse hormônio está presente em teores mais elevados nas plantas alagadas, provocando a redução do crescimento de folhas, caules e raízes, a epinastia (curvatura para baixo), a senescência e a abscisão foliar, o aumento da espessura da base caulinar, a formação de raízes adventícias e de aerênquima, bem como a hipertrofia de lenticelas dos caules e raízes.

O precursor ACC é acumulado na raiz quando sob hipóxia e transportado através do xilema para a parte aérea mais oxigenada, onde é oxidado a etileno, acarretando uma

TABELA 13.1

Efeitos do alagamento sobre os teores de ACC (nmol g⁻¹) na seiva do xilema e de etileno (nl g⁻¹ h⁻¹) em pecíolos de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Plantas-controle (mantidas em solo drenado) e plantas alagadas durante 24, 48 e 72 horas (Modificada de Bradford e Yang, 1980)

Tempo (horas)	ACC (nmol g ⁻¹)		Etileno (nl g ⁻¹ h ⁻¹)	
	Controle	Alagadas	Controle	Alagadas
0	0,0	0,0	0,15	0,13
24	0,0	1,05	0,15	0,16
48	0,0	2,95	0,07	0,58
72	0,0	1,55	0,07	1,05

elevação na produção desse gás. O teor de ACC no caule aumenta substancialmente em resposta ao alagamento após 24 horas, e a produção do etileno ocorre a partir de 48 horas (Tabela 13.1).

Em plantas de arroz, dois genes codificadores da ACC sintase, um deles ativado na parte aérea (*os-acs1*) e o outro (*os-acs3*) nas raízes, são induzidos por anaerobiose. Em folhas de tomate o gene *ptom13* codifica um polipeptídeo componente da ACC oxidase, cuja atividade é aumentada após 6–12 horas do início do alagamento.

Seca

Algumas espécies vegetais, tecidos de folhas ou frutos, quando destacados e submetidos à seca, apresentam teores mais elevados de etileno do que aqueles de plantas intactas submetidas à seca sob condição natural. As alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares observadas nesses casos parecem estar associadas ao aumento e redistribuição do ácido abscísico, principal hormônio envolvido com esse tipo de estresse (ver Cap. 12, Ácido Abscísico).

Substâncias químicas

A produção de etileno pode ser estimulada por vários metais fitotóxicos, como cádmio, cobre, ferro, lítio, prata e zinco; compostos inorgânicos, como amônia, bissulfito, ozônio e salicilato; e orgânicos, como ácido ascórbico; herbicidas, como endotal, paraplat e glifosato; desfolhantes, como o thidiazuron e cianeto de potássio; e pesticidas, como metolmil.

Ferimentos mecânicos

A síntese de etileno pode ser promovida através de estímulos mecânicos, como o destacamento e fragmentação de órgãos, a incisão ou a pressão, sendo sua produção dependente da intensidade do ferimento. A elevação do teor de etileno foi registrada em batata-doce, nos frutos de maçã, abacate e tomates, em folhas de

feijão, tomate, espinafre e milho e caule de *Pharbitis nil*. Enquanto em folhas machucadas de feijão a síntese de ACC ocorreu após 10 minutos, em frutos de moranga (*Cucurbita maxima* Duch.) esse efeito foi observado num intervalo de 10 a 25 horas, coincidentemente com uma maior produção da ACC sintase e do etileno (Tabela 13.2).

Infecção por patógenos

A infecção por vírus, bactérias e fungos causa o amarelecimento, epinastia e abscisão das folhas. Esses sintomas, típicos do etileno, podem ser observados em folhas de feijão, tabaco, pepino e de tomate infectadas por vírus, assim como em *Vicia fava* infectada pela bactéria noduladora *Rhizobium leguminosarum*. Uma grande variedade de fungos, dentre os quais *Diplodia natalensis*, *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* e *Alternaria citri*, também podem causar o aumento na produção de etileno em frutos de banana, manga e maçã.

PRINCIPAIS FUNÇÕES NOS VEGETAIS

Divisão e expansão celular

A redução de crescimento provocada pelo etileno em plantas intactas está geralmente associada ao retardamento (ou mesmo inibição) da divisão celular, devido a uma maior duração das fases G1, G2 ou S.

Tratamentos com etileno promovem a reorganização dos microtúbulos e das microfibrilas de celulose da parede celular, de uma posição normalmente transversal para outra longitudinal, resultando, em consequência, uma redução acentuada do alongamento longitudinal e um incremento na expansão lateral das células, fazendo com que o caule fique ao mesmo tempo mais curto e espesso. Esses efeitos são facilmente observados em ervilha, assim como em plantas alagadas, como verificado em *Pelthophorum dubium* (Fig. 13.10).

TABELA 13.2

Efeitos de fermento na produção, durante 25 horas, da ACC sintase ($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$), ACC (nmol g^{-1}) e etileno ($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$) em discos de mesocarpo de *Cucurbita maxima* (Modificada de Hyodo et al., 1989)

Tempo (h)	Teores		
	($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	(nmol g^{-1})	($\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$)
	ACC sintase	ACC	Etileno
0	0	0	0
5	125	61,95	2,82
10	260	141,59	6,12
15	110	707,96	7,53
20	20	902,65	8,94
25	10	920,35	22,59

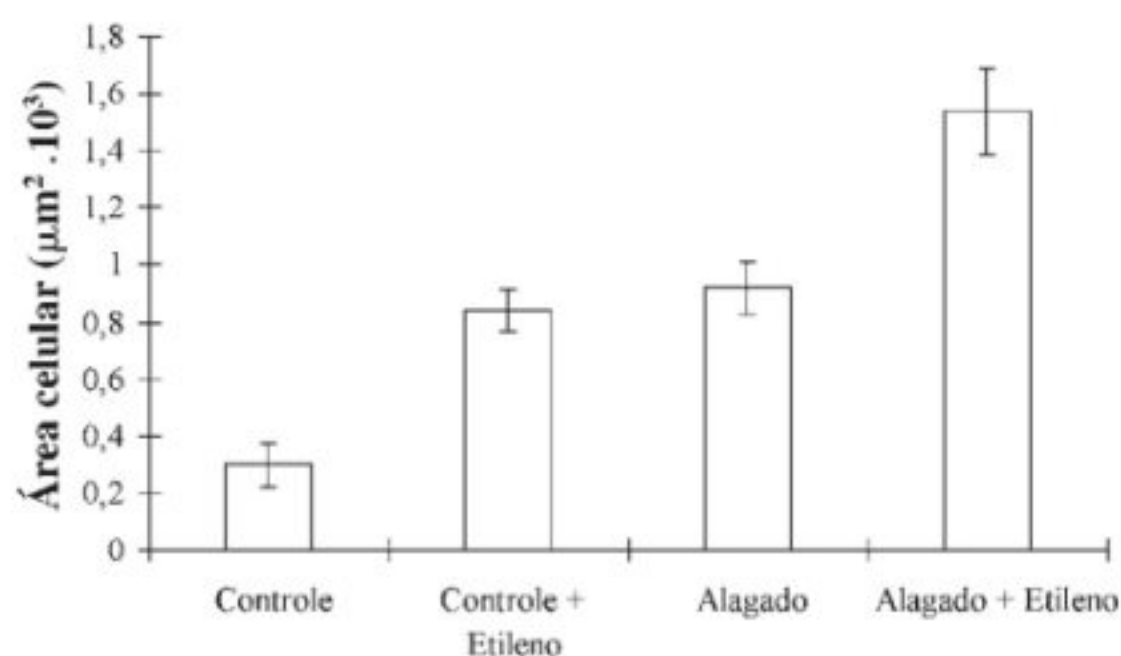
Dormência

A habilidade de muitas plantas de se desenvolverem em estações do ano ou regiões adversas depende da capacidade que apresentam de restringir o desenvolvimento sob condições desfavoráveis e retomá-lo em condições apropriadas. Os mecanismos de reativação do crescimento e desenvolvimento ainda não são totalmente compreendidos, podendo haver alguma participação do etileno nesses processos.

O envolvimento do etileno na promoção da germinação foi observado, inicialmente, na década de 1920 em algumas espé-

cies de mono- e dicotiledôneas. Sementes dormentes de pêsego, por exemplo, apresentam uma produção reduzida de etileno no eixo embrionário, podendo a germinação destas ser promovida através de tratamento com Ethrel. Em carrapichos, as sementes não-dormentes produzem até quatro vezes o teor de etileno verificado nas sementes dormentes, cujos tecidos acumulam ACC e apresentam baixa atividade da ACC oxidase. Em sementes de alface e de *Xanthium pennsylvanicum*, a utilização de inibidores da síntese de etileno, como o AVG e íons cobalto, reduz a taxa de germinação, efeito esse revertido, por sua vez, com a aplicação desse gás.

O efeito do etileno na promoção do desenvolvimento de brotos laterais em plantas lenhosas é conhecido desde a década de 1920, apesar de não se saber ainda ao certo como atuaria nesse processo. O desenvolvimento dos ramos laterais resultaria da remoção do efeito inibitório do meristema apical sobre as gemas laterais, cuja dormência é controlada por vários hormônios, podendo o etileno modular a atividade desses hormônios (ver Caps. 9 e 10, Auxinas e Citocininas). A brotação de bromeliáceas, cormos de gladiolos e tubérculos de batatas pode ser estimulada, experimentalmente, por etileno, estando associada, pelo menos no último caso, ao aumento da taxa respiratória e à mobilização de carboidratos.

**FIGURA 13.10**

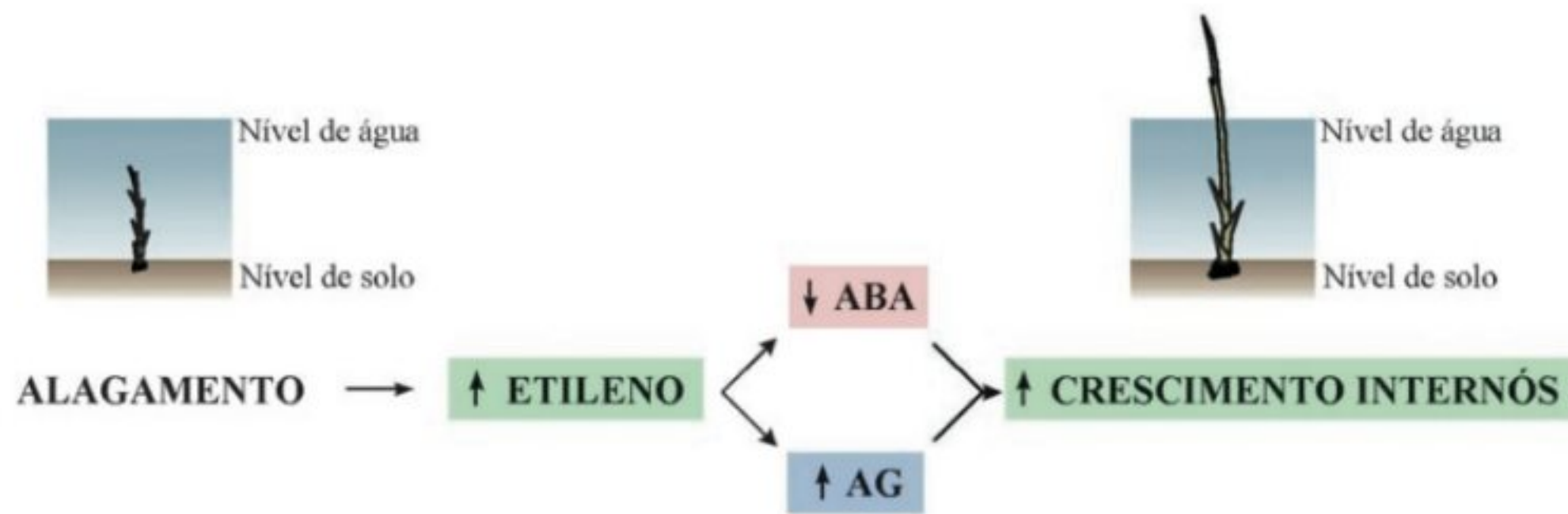
Área média de células da base caulinar de plantas de *Pelthophorum dubium*. Controle — plantas drenadas; controle + etileno — plantas drenadas e tratadas com 240 mg l^{-1} de Ethrel; alagado — plantas alagadas; alagado + etileno — plantas alagadas e tratadas com 240 mg l^{-1} de Ethrel. Um aumento similar das áreas das células foi verificado tanto em plantas drenadas tratadas com Ethrel quanto em plantas submetidas ao alagamento. As maiores áreas celulares são observadas em plantas alagadas tratadas com Ethrel. (Modificada de Medri et al., 1998.)

Crescimento e diferenciação da parte aérea

CRESCIMENTO

A inibição do crescimento resultante da divisão e alongamento celulares é um efeito marcante do etileno, interpretado como consequência de alterações no transporte ou da ação de substâncias promotoras desses eventos celulares.

Em caules e raízes, a inibição do crescimento é rápida, porém reversível, tanto em plantas intactas quanto em segmentos isolados. Entretanto, em plantas aquáticas, o crescimento de

**FIGURA 13.11**

Crescimento caulinar de plantas de arroz cultivadas sob alagamento. Nessa condição, as plantas apresentam teores elevados de etileno, o que acarreta uma diminuição da concentração do hormônio inibidor do crescimento do ácido abscísico (ABA) e um aumento no teor do hormônio promotor de crescimento de ácido giberélico (AG), o que promove o crescimento do caule.

caules, pecíolos e pedúnculos de frutos é estimulado pela elevação do teor de etileno, este resultante simultaneamente do aumento na síntese do ACC e redução na difusão deste e de outros gases, de acordo com o observado, por exemplo, em arroz. Pecíolos de várias plantas de hábito aquático, como *Ranunculus sceleratus*, *Rumex palustris*, *Rumex crispus*, *Nymphoides peltata*, *Callitriche platycarpa* e raquis de *Regnillidium diphyllum* (samambaia) podem também ter o crescimento favorecido por etileno. Esses efeitos estimulatórios podem ser resultantes da interação do etileno com outros hormônios, dentre os quais um aumento na síntese de ácido giberélico (AG), ou uma diminuição no teor do ácido abscísico (ABA), alterando assim, favoravelmente, o balanço entre as substâncias promotora e inibidora do crescimento (Fig. 13.11).

Perturbações mecânicas no caule causadas pelo vento podem estimular a produção de etileno e alterar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, modificando sua estatura e formato. Em hipocótilo de pepino, a produção de etileno foi duplicada após 4 horas da perturbação mecânica, causando a curvatura da plântula em direção ao estímulo, processo esse observado em cerca de 50 espécies de 20 famílias diferentes.

Em plantas jovens de ervilha e estolões de morango, a presença de etileno promoveu uma curvatura de 90° na orientação do crescimento da porção aérea. O mutante diageotrópico de tomate (*dgt*), caracterizado pelo crescimento horizontal tanto dos caules quanto das raízes, bem como pela pouca sensibilidade à auxina, quando tratado com etileno mostrou-se capaz de retornar, mesmo que parcialmente, ao crescimento vertical.

SENESCÊNCIA E MORTE CELULAR PROGRAMADA (MCP)

A senescência ou envelhecimento nas plantas superiores, diferentemente do que geralmente se supõe, não deve ser vista como processo de deterioração, mas como parte integrante de um programa de desenvolvimento.

Neste ponto cabe conceituar os termos senescência e morte celular programada, que são freqüentemente encontrados em

textos que abordam a morte em vegetais, e não devem ser tratados como sinônimos. Embora haja certa controvérsia entre os pesquisadores no uso dos termos, a classificação proposta por Thomas e colaboradores em 2003 vem ganhando maior aceitação. Para estes autores, a *senescência* é um conjunto de processos que leva à morte, e que pode ser visualizado a olho nu. Desta forma, o termo senescência só faz sentido quando aplicado a órgãos ou plantas inteiras. Já a *morte celular programada* (MCP), como o próprio nome diz, estaria restrita às células. Processos, como o amarelecimento de folhas, podem ser vistos como tipicamente relacionados à senescência. Já a formação do aerênquima ou dos elementos de vaso são processos ligados à MCP.

Contudo, vários processos associados à senescência têm origem em eventos de morte celular, que, a partir de certa extensão, passam a apresentar sinais visíveis a olho nu, como, por exemplo, o envelhecimento e a morte dos órgãos florais. Com isso, pode-se admitir que em certos casos há uma sobreposição entre a senescência e a MCP, mas, ainda assim, estas podem ser tomadas como distintas, se levada em consideração a conceituação de Thomas e colaboradores.

Cabe ainda diferenciar outro termo designado para um tipo de MCP encontrada em células animais: a *apoptose*. O processo apoptótico é definido com base em critérios citológicos derivados de eventos como a condensação da cromatina, fragmentação do DNA, redução do volume citosólico e a formação dos corpos apoptóticos (fragmentos nucleares misturados a material celular e circundados por fragmentos da membrana plasmática). Estes últimos, uma vez formados, são fagocitados pelas células vizinhas, sendo este também outro evento característico da apoptose.

Dentre estes processos, a condensação da cromatina, a fragmentação do DNA e a diminuição no volume citosólico já foram observados em plantas, assim como outros processos também associados à apoptose em células animais, como a ativação por peróxido de hidrogênio ou cálcio e o aumento na expressão de tipos específicos de cisteína proteases que atuam no processo de morte celular. Porém, dois eventos importantes como a fragmentação celular (com formação dos corpos apoptóticos)

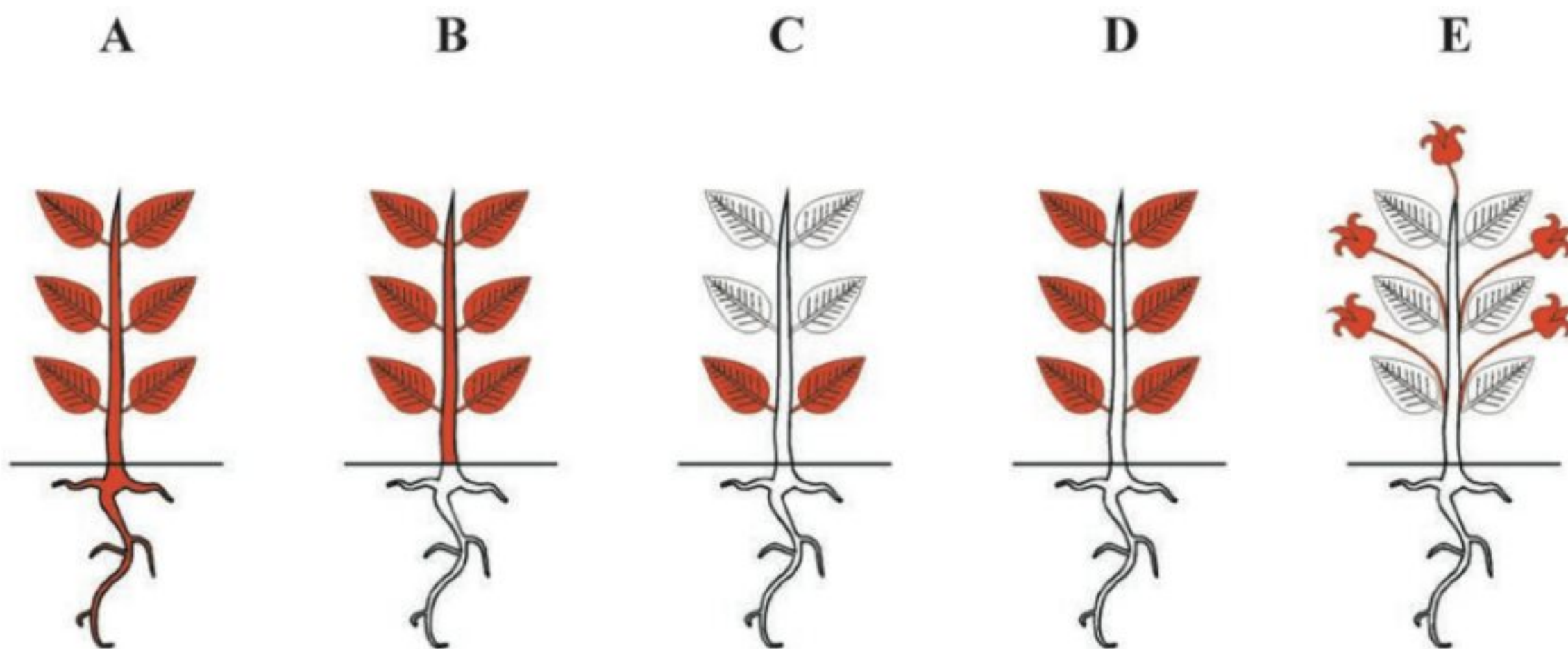


FIGURA 13.12

Tipos principais de senescência em plantas superiores, com a morte da planta inteira (A); apenas a parte aérea (B); progressivamente das folhas mais velhas em direção às mais novas (C); simultaneamente em todas as folhas (D); e partes florais (E).

e a fagocitose nunca foram observados em vegetais. Portanto, dada a ausência destes eventos (pelo menos até o momento não detectados), classificam-se certos processos de MCP em plantas como *tipo-apoptóticos* e considera-se o termo “*apoptose*” com a mesma acepção usada para células animais, inadequado para o uso em plantas.

A senescência pode ocorrer no organismo inteiro (Fig. 13.12) ou somente em parte dele. No primeiro caso, encontram-se as plantas *monocárpicas* que frutificam uma única vez para morrer logo em seguida, mesmo quando as condições ambientais mantêm-se favoráveis ao desenvolvimento, como é o caso do milho, picão, alface, soja, tabaco etc. Nesse grupo não se encontram apenas plantas herbáceas, mas muitas espécies de agaves (Fig. 13.13) e

touceiras de bambu, as quais podem demorar até dezenas de anos para florescer e frutificar, porém, quando o fazem, morrem rapidamente (Fig. 13.12A). Nos vegetais monocárpicos, portanto, parece existir uma forte relação entre a frutificação e o estabelecimento dos eventos da senescência. Acredita-se, há bastante tempo, que a exaustão dos nutrientes disponíveis seria uma das causas desencadeadoras da senescência e da morte dessas plantas. De fato, se os botões florais de uma planta monocárpica forem sucessivamente eliminados à medida que se formam (drenos), a senescência pode ser retardada por um bom período de tempo.

Em algumas plantas, apenas a parte aérea senesce, permanecendo intactas as raízes e uma pequena porção da base caulinar, da qual se formam novos brotos quando as condições ambientais se tornam favoráveis à retomada do crescimento (Fig. 13.12B). A senescência pode ocorrer apenas nas folhas mais velhas, progredindo em direção às mais novas (Fig. 13.12C). Nesse caso, a causa do amarelecimento inicial e da morte que se segue pode ser encontrada na translocação dos nutrientes dessas folhas para as regiões mais ativas do crescimento. A deficiência de nitrogênio é tida como uma das mais fortes causas dessa resposta (ver Cap. 2, Nutrição Mineral). A senescência foliar pode ser desencadeada também por fatores ambientais, como o encurtamento dos dias e a diminuição das temperaturas outonais, conforme facilmente observado em angiospermas arbóreas de região de clima temperado, nas quais a senescência atinge todas as folhas simultaneamente, tornando-as amarelo-avermelhadas (Fig. 13.12D).

A senescência envolve tanto eventos citológicos quanto bioquímicos. Os cloroplastos do mesófilo são as primeiras organelas a entrar no processo de deterioração e de senescência foliar, desencadeado pela hidrólise das proteínas constitutivas dos tilacóides, do estroma (enzimas), degradação da clorofila e conseqüente perda da cor verde. A coloração amarelo-avermelhada das folhas senescentes resulta da presença de carotenóides,



FIGURA 13.13

Agave. Planta monocárpica que após uma única floração senesce e morre. (Foto de Lia Chaer.)

antes mascarados pela clorofila. A senescência foliar progride com a redução do volume citoplasmático, número de ribossomos etc. Apesar dessas profundas modificações, o núcleo permanece estrutural e funcionalmente intacto até os estágios finais da senescência foliar.

As flores podem também ser mencionadas como órgãos de senescência simultânea, principalmente suas pétalas, sépalas e estames (Fig. 13.12E), o que é facilmente visível, por exemplo, nos nossos ipês e jacarandás-mimosos, ambos da família Bignoniaceae. Quando não fecundadas, as flores inteiras caem.

O tempo de vida das flores é específico para cada espécie e cuidadosamente regulado em função de sua necessidade ecológica. Em primeiro lugar, as flores representam importantes drenos de energia e mantê-las por longos períodos, além do tempo necessário, acarreta um alto custo para as plantas. Em segundo lugar, as flores podem representar importantes vias de entrada para o sistema vascular do vegetal, através do estigma, e portanto expor a planta ao ataque de patógenos. Em terceiro lugar, a remoção das flores após a polinização diminui a concorrência com as demais pela atenção dos polinizadores, aumentando as chances de fecundação na espécie.

Assim, polinizada ou não, as plantas desenvolveram uma série de estratégias bioquímicas para limitar o tempo de vida das flores, e os fitormônios desempenham papel-chave na regulação destes eventos.

O etileno é um dos reguladores mais claramente envolvidos com a senescência dos órgãos florais, e como comprovação dessa assertiva flores que são tratadas com o hormônio rapidamente entram em senescência. Em muitas espécies observa-se o aumento na síntese de etileno logo após a polinização e, deste modo, entende-se que este hormônio atue como mediador do sinal enviado do estigma polinizado para as demais partes do órgão floral, induzindo-os à senescência. Contudo, assim como nos frutos, a sensibilidade ao etileno é ditada pelo desenvolvimento das flores, sendo que flores plenamente desenvolvidas são muito mais sensíveis ao hormônio do que as flores imaturas. Em muitas espécies, após a maturidade, as flores ganham sensibilidade ao etileno cada vez maior, e após certo tempo passam também a sintetizar o hormônio, o que acelera ainda mais a senescência e a abscisão do órgão, independentemente da polinização.

O tratamento de flores com inibidores da ação do etileno, como o 1-metilciclopropeno, ou inibidores de sua síntese, como a aminoetoxivinilglicina (AVG) e íons cobalto, atrasam a senescência das flores. Da mesma forma, os mutantes *ein2*, *ein3*, *etr1* e *ers2* de *A. thaliana*, insensíveis ao etileno, apresentam atraso na abscisão dos órgãos florais.

Embora tais observações apontem para um papel relevante do etileno na senescência e morte das flores, em algumas espécies, como *Hemerocallis* e *Alstroemeria*, tais eventos parecem progredir sem que haja participação expressiva deste hormônio, indicando o envolvimento de outros reguladores.

Embora a senescência inclua processos de degradação e desativação de funções, paradoxalmente a ocorrência desses eventos catabólicos depende da síntese *de novo* de enzimas hidrolíticas,

como proteases, lipases e ribonucleases (Fig. 13.14). Um exemplo que ilustra de forma clara tais eventos bioquímicos é encontrado em várias espécies do gênero *Ipomoea*. As flores destas plantas apresentam um ciclo de vida bem marcado de sete dias, sendo que no mesmo dia em que ocorre a completa abertura floral, horas depois começam a aparecer os sintomas de senescência, principalmente nas pétalas.

As flores das *Ipomoea* são particularmente sensíveis ao etileno, e o tratamento com o hormônio acelera substancialmente sua senescência. Logo após a completa abertura, as flores começam a produzir e emitir níveis crescentes do hormônio (Fig. 13.14), que por sua vez sinaliza para a indução de diversos genes associados à senescência (SAGs — *senescence associated genes*).

Alguns desses genes foram caracterizados como responsáveis pela codificação de enzimas ligadas ao metabolismo da parede celular, dentre os quais uma extensina, uma cafeoil-3-O-metiltransferase (enzima ligada à síntese de lignina) e uma pectinacetiltransferase. Tais enzimas devem desempenhar seu papel nas alterações da parede celular associadas à abertura da corola e, posteriormente, ao enrolamento das mesmas na fase seguinte (estágio 4, Fig. 13.14). Os genes de algumas cisteína proteases também aumentam sua expressão nas fases iniciais da senescência das pétalas, correlacionadas ao aumento geral da atividade proteolítica. Proteases desta classe são as mais tipicamente associadas à morte celular programada, tanto em plantas quanto em animais.

ABERTURA DO GANCHO SUBAPICAL

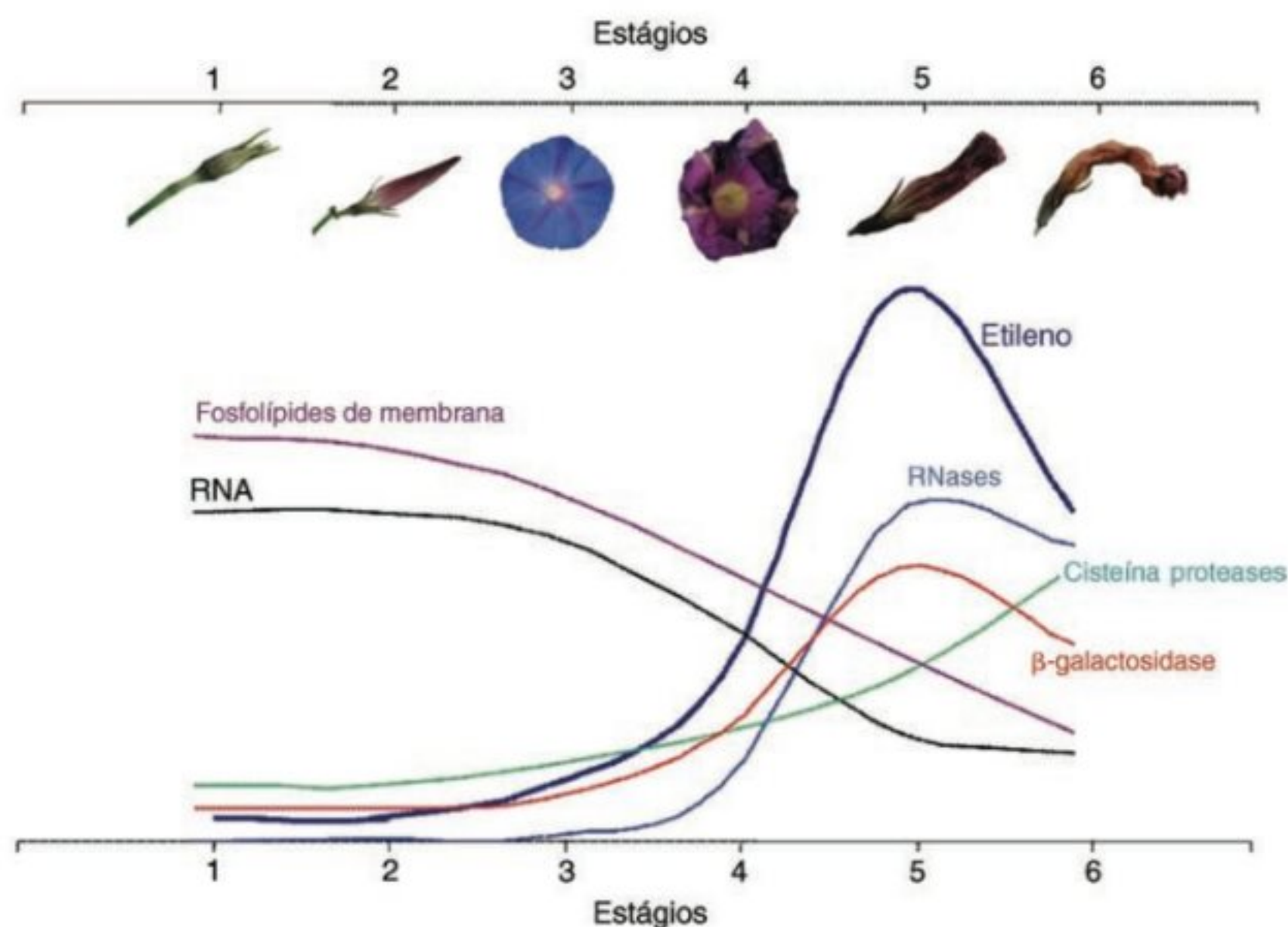
O gancho subapical, encontrado na maioria das dicotiledôneas muito jovens, protege o meristema apical durante o crescimento das plântulas ainda quando sob o solo. Uma maior produção de etileno foi verificada na região interna do gancho subapical de feijão em comparação à porção externa — nesse caso, a aplicação do inibidor de etileno AVG resultou na abertura do feijão.

Plantas crescidas no escuro e, portanto, estioladas apresentam uma produção elevada de etileno, reduzida com a exposição à luz. Aparentemente, o fitocromo atua intermediando essas respostas: enquanto a luz no comprimento de onda vermelho (660 nm) inibe a produção de etileno, o vermelho extremo (730 nm) produz o efeito contrário (ver Cap. 15, Fotomorfogênese em Plantas). A luz vermelha, inibindo a produção do etileno, causa um efeito promotor na abertura do gancho subapical em ervilha, trigo, arroz, soja e cevada. A diminuição da síntese desse hormônio é devida à diminuição dos teores de ACC disponíveis em função da síntese aumentada de sua forma inativa: o malonil ACC (mediada pela malonil ACC transferase).

EXPANSÃO E EPINASTIA DE FOLHAS

A expansão das folhas de plantas de batata, tabaco, girassol e gramíneas pode ser inibida pela aplicação de etileno, devido aparentemente à diminuição na taxa de divisão celular.

A epinastia, isto é, a curvatura para baixo da folha devido ao maior alongamento das células da parte superior do pecíolo,

**FIGURA 13.14**

Alterações fenotípicas em flor de *Ipomoea* sp., destacando o desenvolvimento, a abertura floral e a senescência (alto). O tempo de vida do órgão floral nesta espécie compreende um curto período de 6 a 7 dias. O gráfico apresenta alterações de diversos parâmetros associados à senescência em *Ipomoea* sp. O etileno, que nas fases iniciais de desenvolvimento é produzido em pequena quantidade, tem sua produção aumentada no início da senescência e é um dos sinais que coordenam as alterações relativas a esta fase, dentre as quais: aumento na atividade de RNases, com conseqüente diminuição no conteúdo de RNA total nos tecidos da corola; diminuição no teor de fosfolípidos de membrana, indicando processos degradativos em células e organelas; aumento na atividade de enzimas, como a β-galactosidase, que atuam sobre a parede celular e que levam a modificações e por fim à degradação desta estrutura; aumento na atividade de cisteína proteases associadas ao catabolismo protéico. (Fotos de Lia Chaer.)

é considerada por alguns autores como um efeito direto do etileno, enquanto para outros decorreria de uma redistribuição e acúmulo de auxina na parte superior do pecíolo induzidos por esse hormônio.

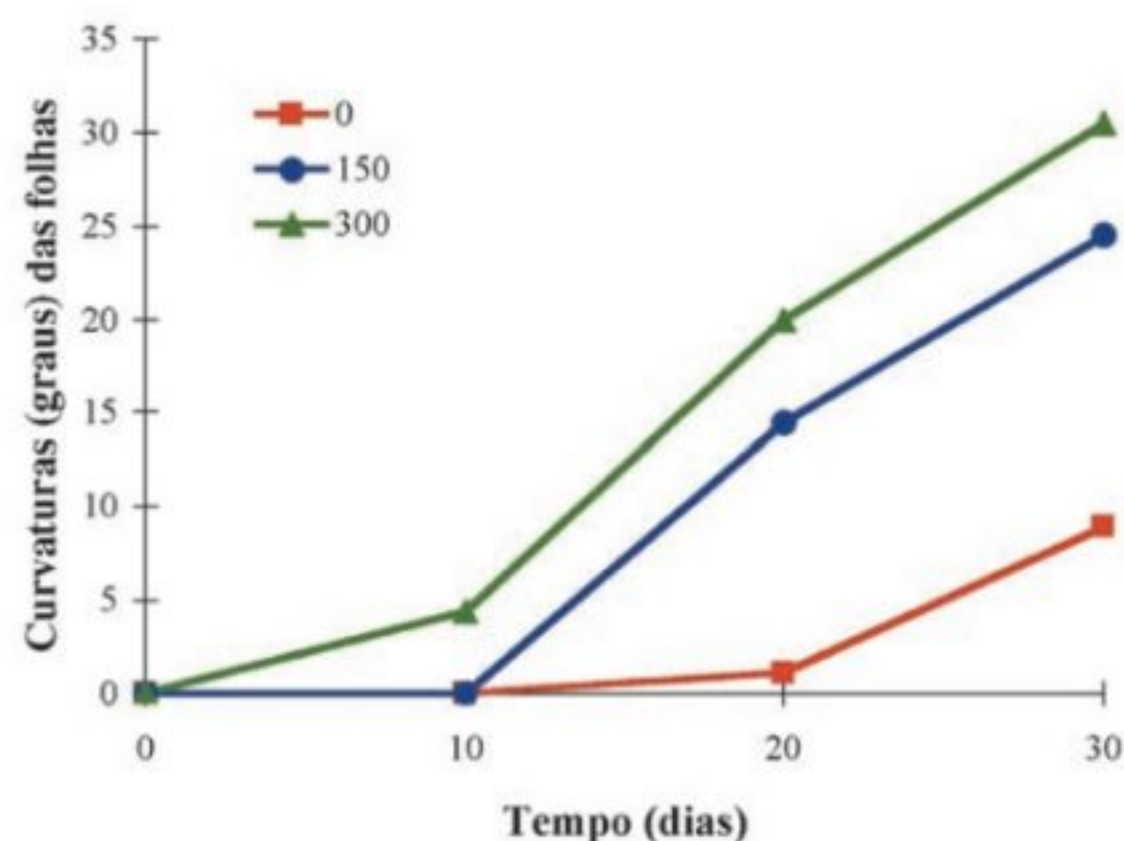
A aplicação de Ethrel em plantas ainda pequenas de *Croton urucurana*, uma Euphorbiaceae lenhosa brasileira, promove uma maior curvatura nas folhas tratadas com concentrações mais elevadas dessa substância (Fig. 13.15). Entretanto, a curvatura das folhas em resposta ao tratamento com etileno não foi verificada com a mesma intensidade em outras plantas.

Plantas submetidas ao alagamento geralmente apresentam epinastia, como observado em tomateiros. Nessas plantas, a epinastia resulta de um aumento tanto na síntese da enzima ACC sintase quanto na produção de ACC no sistema radicular. Essa substância, quando transportada através do xilema para a parte aérea, na presença de O_2 , é convertida a etileno pela ACC oxidase, resultando num rápido estabelecimento da epinastia foliar.

LENTICELAS HIPERTROFIADAS

O etileno está associado à hipertrofia de lenticelas caulinares, estas resultantes de um aumento de volume de células parenquimatosas encontradas junto a seus poros. Em plantas de *Croton*

urucurana mantidas sob condições de capacidade de campo e tratadas com Ethrel, observou-se que o número de lenticelas

**FIGURA 13.15**

Curvaturas (graus) das folhas de plantas de *Croton urucurana* provocada pelo tratamento com 150 e 300 mg l⁻¹ de Ethrel, durante 30 dias. (Colli, 1998.)

TABELA 13.3

Número médio de lenticelas hipertrofiadas encontradas em uma área de 0,25 cm² na base caulinar de plantas de *Croton urucurana* tratadas com 150 e 300 mg l⁻¹ de Ethrel. Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P < 0,05) (Modificada de Colli, 1998)

Ethrel (mg l ⁻¹)	Número de lenticelas
0	0 b
150	1,15 b
300	4,29 a

aumentava com o aumento da concentração dessa substância liberadora de etileno (Tabela 13.3). Essa hipertrofia tem sido observada na base de caules e em raízes de plantas sujeitas ao alagamento, representando estruturas importantes para a eliminação de compostos tóxicos, como o etanol, e também para a captação do oxigênio, que se difunde da parte aérea para as raízes submersas sob hipoxia.

INDUÇÃO FLORAL E EXPRESSÃO SEXUAL

A promoção da floração pelo etileno, inicialmente observada em abacaxizeiro e mangueira através da fumaça de madeira, é limitada a um pequeno número de espécies, destacando-se as de Bromeliaceae. Em plantas de abacaxi, a aplicação de Ethrel ou de auxinas que induzem a produção de etileno sincroniza a resposta de floração e, portanto, a colheita dos frutos, representando uma importante prática horticultural. A resposta ao etileno depende da presença de pelo menos uma folha com grau mínimo de maturidade. Enquanto o tratamento de seis horas com etileno mostrou-se suficiente para promover após quatro dias a indução floral em abacaxi, o tratamento com AVG em algumas espécies ornamentais de Bromeliaceae atrasou a formação de flores (ver Cap. 18, Floração).

A aplicação de etileno em bulbos de gladiolos, narciso e íris aumentou a formação de hastes florais. Em *Narciso tazetta*, a aplicação desse gás aumentou a taxa de floração em 70% e reduziu em 20 dias o período de juvenildade.

Tratamentos com etileno podem promover a feminilização na alga marinha *Dictiostelium mucoroides* e na briófita *Selaginella*, assim como em plantas superiores, dentre as quais as Cucurbitaceae. Esse processo pode ser resultante da indução de um meristema floral feminino ou da ação letal do etileno na gametogênese masculina. Em Gramineae, especialmente em trigo, 89% das plantas tratadas com esse fitormônio apresentaram esterilidade masculina. Por outro lado, a aplicação de etileno em Cucurbitaceae, *Morus*, *Ricinus communis* (mamona) e *Spinacia* induziu a formação de flores femininas. O tratamento com giberelina exerce um efeito contrário ao etileno, favorecendo a produção de flores

masculinas, efeito esse também verificado com a aplicação tanto de inibidores da síntese de etileno (AVG) quanto de sua ação (íons de prata) (ver Cap. 11, Giberelinas).

TECIDOS SECRETORES

Algumas plantas possuem tecidos secretores, como os ductos de resina em Pinaceae e os ductos gomíferos em Prunoideae, *Citrus* e *Acacia*. O etileno tem sido associado à indução dessas estruturas secretoras, relacionadas geralmente com a defesa contra insetos e organismos causadores de doenças. A aplicação de Ethrel estimulou a formação de resinas e ductos resiníferos em *Pinus*, além da formação de gomas em *Citrus vokameriana*, mangueira e cerejeira. Estresses, como o alagamento, induzem a produção de etileno e a formação desses ductos resiníferos.

Em *Hevea brasiliensis* (seringueira), a aplicação de ACC é capaz de desencadear um aumento na produção e fluxo de látex, sendo essa uma técnica bastante utilizada na produção comercial da borracha.

AMADURECIMENTO DE FRUTOS

Um dos processos ao qual o etileno está mais intimamente associado é o amadurecimento de frutos, tanto que por muitos anos e ainda hoje este é referido como “hormônio do amadurecimento”. Maiores detalhes sobre o papel do etileno neste processo encontram-se no Cap. 19, Frutificação e Amadurecimento.

ABSCISÃO

Ao longo do desenvolvimento, as plantas superiores podem liberar folhas, flores, partes de flores e frutos. Esse é o processo de abscisão, geralmente relacionado com frutos maduros, órgãos senescentes ou danificados. A abscisão ocorre na *camada* ou *zona de abscisão*, um conjunto de células diferenciadas tanto morfológica quanto fisiologicamente. As zonas de abscisão localizam-se entre o órgão e o ramo da planta e se estabelecem, precocemente, durante o desenvolvimento do órgão.

Com base em evidências experimentais disponíveis, tem sido sugerido que a abscisão seria controlada principalmente pela ação de dois hormônios: etileno e auxina. O primeiro teria um papel desencadeador da abscisão, enquanto a auxina estaria envolvida numa redução da sensibilidade das células ao etileno, prevenindo ou retardando a queda dos órgãos (ver Cap. 9, Auxinas). De fato, a aplicação de etileno estimula a abscisão após as células da camada de abscisão terem alcançado o necessário grau de competência para tanto. De modo geral, órgãos ainda bastante jovens não respondem ao etileno. O efeito do etileno tem sido satisfatoriamente revertido pela aplicação de substâncias inibitórias da síntese ou da ação do etileno (anteriormente mencionadas). As evidências disponíveis indicam que o efeito da auxina, nesse caso, ocorreria sob um rígido controle de sua concentração endógena no órgão. Experimentos nos quais foram retirados os limbos das folhas mostraram que os pecíolos logo sofriam abscisão, a qual, por sua vez, podia ser retardada se fosse

aplicada pasta de lanolina contendo de 0,1 a 10 mg g⁻¹ de AIA. Tratamentos com doses elevadas de auxinas podem ter efeitos opostos, nesses casos contribuindo para a aceleração da abscisão, conforme tem sido verificado em folhas de várias espécies de angiospermas. Experimentos têm mostrado, em vários tipos de tecidos, que a presença de teores elevados de auxina estimula a síntese de etileno; trata-se de um efeito bastante conhecido das auxinas, conforme visto anteriormente e no Cap. 9, Auxinas. O emprego de auxinas sintéticas como agentes desfolhantes é conhecido há tempos, destacando-se dentre elas o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), componente ativo do “agente laranja”, abundantemente utilizado pelos Estados Unidos na guerra do Vietnã.

Do ponto de vista estritamente mecânico, a abscisão decorre do estabelecimento de uma fina camada transversal de células ao órgão, cujas ligações de paredes, inicialmente fortes, tornaram-se enfraquecidas devido às atividades de celulases e poligalacturonases.

Conforme esquematizado na Fig. 13.16, as células da zona de abscisão são relativamente pequenas. Nessa condição, a folha mantém-se ligada à planta devido a um gradiente de auxinas que flui do limbo em direção ao caule, tornando as células dessa camada pouco sensíveis ao etileno (Fig. 13.16A). A diminuição do gradiente de auxina está associada a maturidade foliar, estresse ou ácido abscísico, que eleva substancialmente a sensibilidade dessas células ao etileno (Fig. 13.16B), de forma que mesmo um pequeno aumento deste último é suficiente para estimular a formação de enzimas como as celulases, que hidrolisam a parede celular, causando a ruptura (Fig. 13.16C). Conforme é ainda mostrado nessa figura, as células mais externas (do lado caulinar), mesmo após a abscisão, continuam a aumentar de tamanho; quando esse processo se encerra, elas se encontram suberificadas

e mortas, contribuindo assim para a formação de uma camada de proteção externa (Fig. 13.16C).

A abscisão depende da ativação de determinados genes que codificam enzimas hidrolíticas das paredes celulares. Tem sido observado que genes que codificam para a celulase, como, por exemplo, a β -1,4-glucanase, são induzidos preferencialmente nas células da zona de abscisão. Em tomate, foram detectados sete genes (*cel1* a *cel7*) envolvidos com sete diferentes isoenzimas. Na separação do pedúnculo, o maior nível de expressão foi encontrado nos genes *CEL1*, *CEL2* e *CEL5*.

A poligalacturonase, ou pectinase, está também relacionada com a separação de células tanto na abscisão de folhas quanto de flores e frutos. Conforme já mencionado, a síntese dessa enzima depende da presença de etileno, sendo três isoformas associadas com abscisão de tomate (*TAPG1*, *TAPG2* e *TAPG4*).

Crescimento e diferenciação de raízes

CRESCIMENTO

As raízes respondem substancialmente ao etileno do ambiente, o qual pode acumular-se na atmosfera do solo em concentrações relativamente elevadas. O crescimento das raízes é promovido por concentrações baixas de etileno e inibido sob concentrações mais elevadas desse gás.

O etileno parece estar envolvido na penetração das raízes no solo: raízes de plantas de tomate, cultivadas *in vitro*, não conseguiram crescer no ágar quando tratadas com tiosulfato de prata, uma substância inibidora da ação do etileno.

Raízes submetidas a barreiras mecânicas, como solos compactados, apresentam um aumento no diâmetro e uma diminuição no alongamento, tornando-se mais curtas e grossas. Entretanto,

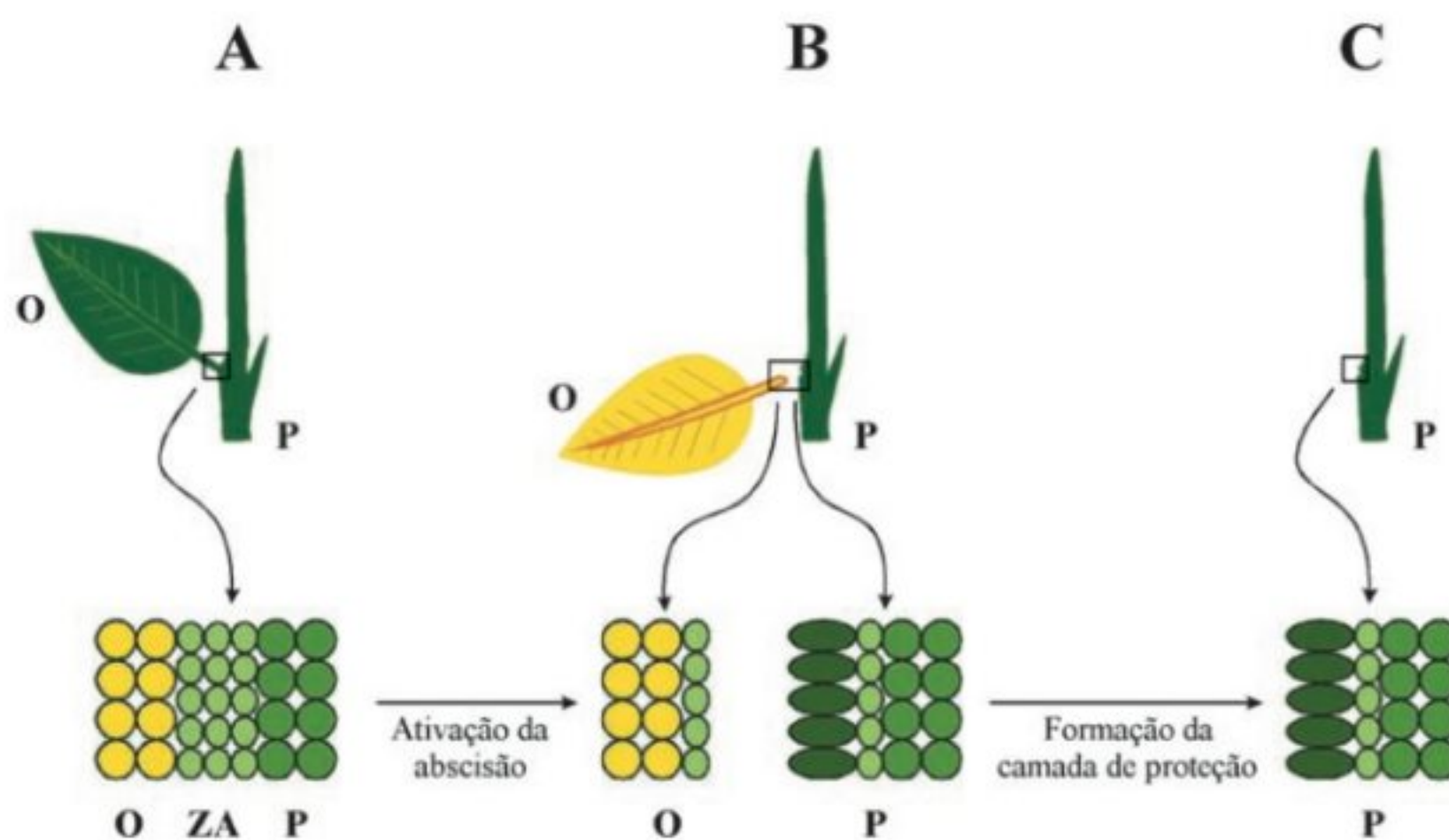


FIGURA 13.16

Representação esquemática da abscisão de órgãos como folhas, flores e frutos. (A) Órgão (O) preso à planta (P), cujas células da zona de abscisão (ZA) são hidrolisadas devido ao decréscimo do teor de auxina e ao incremento da sensibilidade e/ou ao nível de etileno, levando à sua queda (B). As células junto ao caule expandem-se e morrem (C). (Ver também Figs. 9.31 e 9.32, Cap. 9, Auxinas.)

são formadas numerosas raízes laterais bastante finas, capazes de penetrar nos espaços do solo de 0,1–0,5 mm de diâmetro. O crescimento radial da raiz principal sob impedimento mecânico parece ser resultante de uma maior produção de etileno. De fato, raízes de *Vinca* crescidas sob condições de estresse mecânico apresentaram um aumento de cerca de 6 vezes no teor de etileno em relação às plantas-controle.

FORMAÇÃO DE PÊLOS ABSORVENTES

Os pêlos absorventes, além de atuarem como uma espécie de âncora junto às raízes, têm também a função de facilitar a absorção de água e nutrientes, favorecida pelo aumento da área da superfície epidérmica. A formação de pêlos, tanto na zona de alongamento quanto em outras partes das raízes de ervilha, feijão, alface, milho e orquídeas, tem sido promovida pela aplicação de etileno.

RAÍZES ADVENTÍCIAS

A formação de raízes adventícias em estacas tem sido relacionada tanto à presença de auxinas quanto de etileno. Nesse caso, acredita-se que o etileno desempenhe um papel específico, aumentando a sensibilidade dos tecidos à ação das auxinas,

estas sim os agentes controladores do processo de formação de raízes adventícias. Um aumento no teor de etileno resulta num maior número de raízes adventícias formadas, porém estas apresentam comprimento reduzido, conforme observado em estacas de *Vigna radiata* tratadas com ACC (Fig. 13.17). Verificou-se, recentemente, que estacas caulinares de plantas mutantes do tomate *never ripe*, deficientes para a síntese de etileno, apresentaram, em relação às plantas selvagens, uma diminuição acentuada na capacidade de formação de raízes adventícias, mesmo quando tratadas com auxina (AIB). Todavia, contrariamente, quando as estacas eram tratadas com ACC, ocorria um estímulo na formação dessas raízes. Essa diminuição na capacidade de formação de raízes adventícias foi observada também em estacas de *Petunia* mutante para uma menor sensibilidade ao etileno.

A sobrevivência de várias espécies de mono- e dicotiledôneas submetidas ao alagamento está em parte associada à capacidade delas de formar raízes adventícias, estas agora possuidoras de aerênquima, que substituem as raízes mortas ou prejudicadas pelos teores baixos de O₂ no solo (acidose e acúmulo de etanol). A maior concentração de etileno verificada em plantas submetidas ao alagamento aumentaria a sensibilidade dos tecidos à auxina disponível, promovendo o desenvolvimento das raízes adventícias. Portanto, o transporte basípeto da auxina

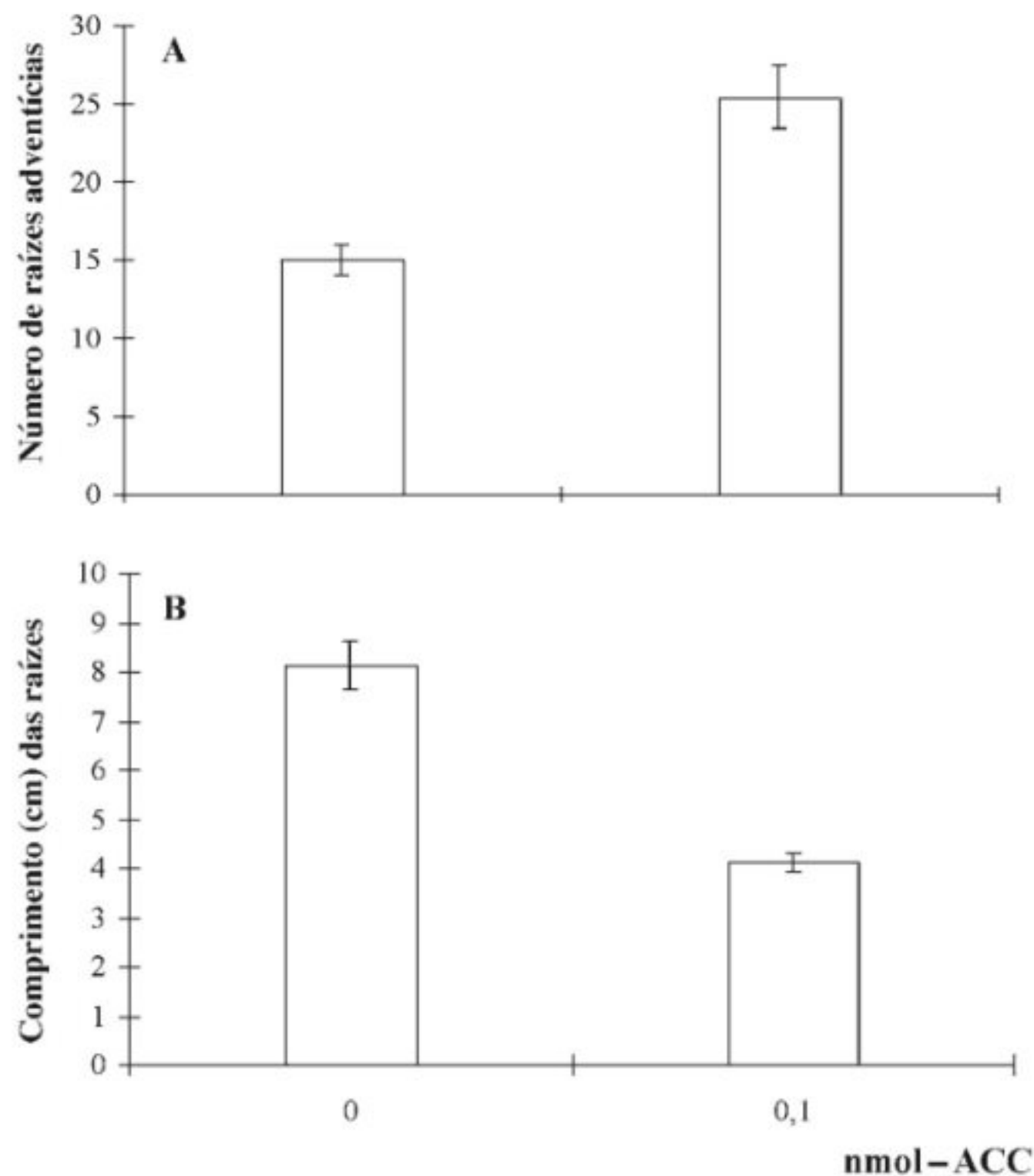
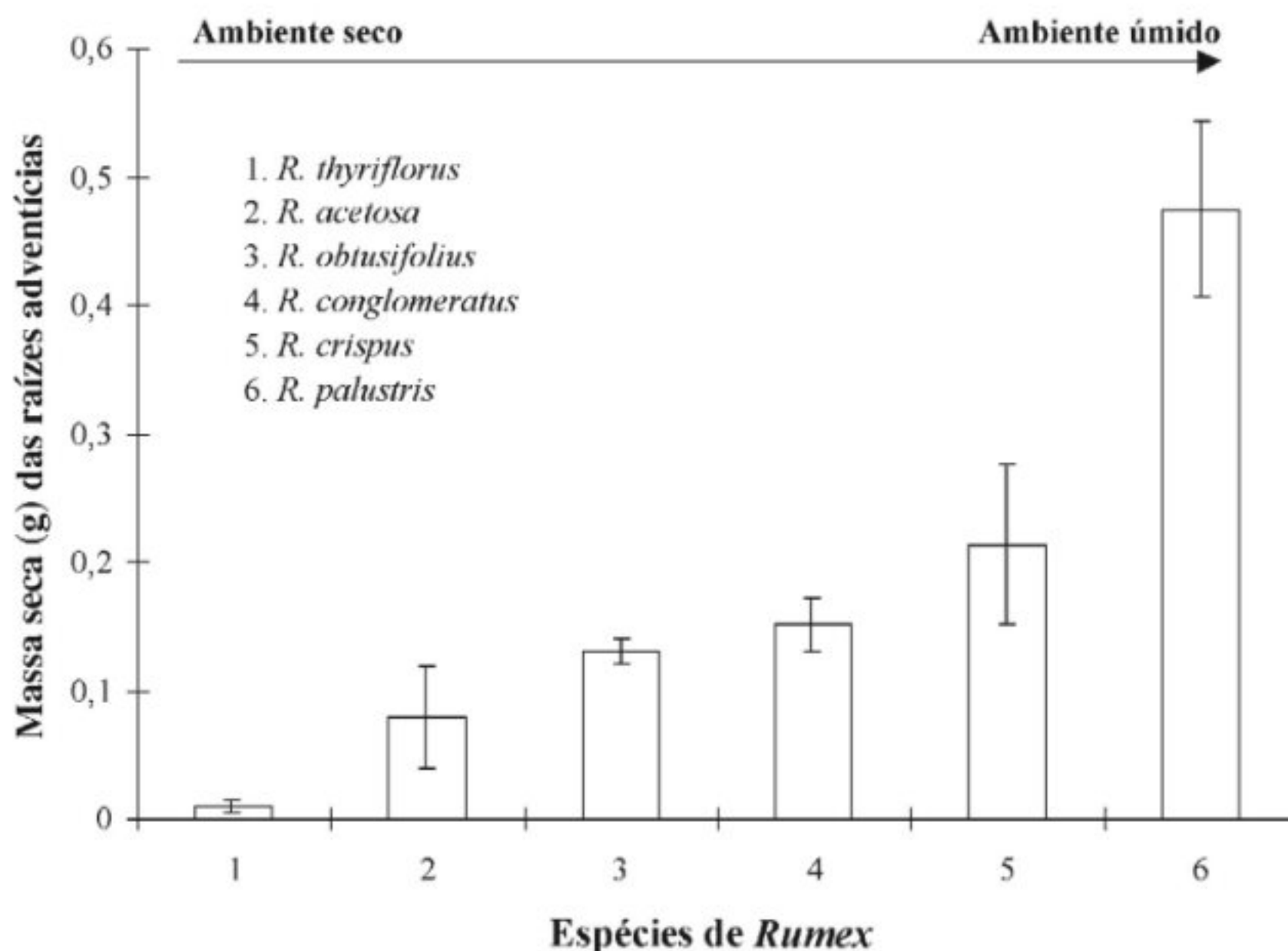


FIGURA 13.17

Efeitos da aplicação de ACC após 72 horas em estacas de *Vigna radiata*. O etileno promove a formação de um maior número de raízes adventícias (A), porém inibe o crescimento longitudinal destas (B). (Modificada de Riov e Yang, 1989.)

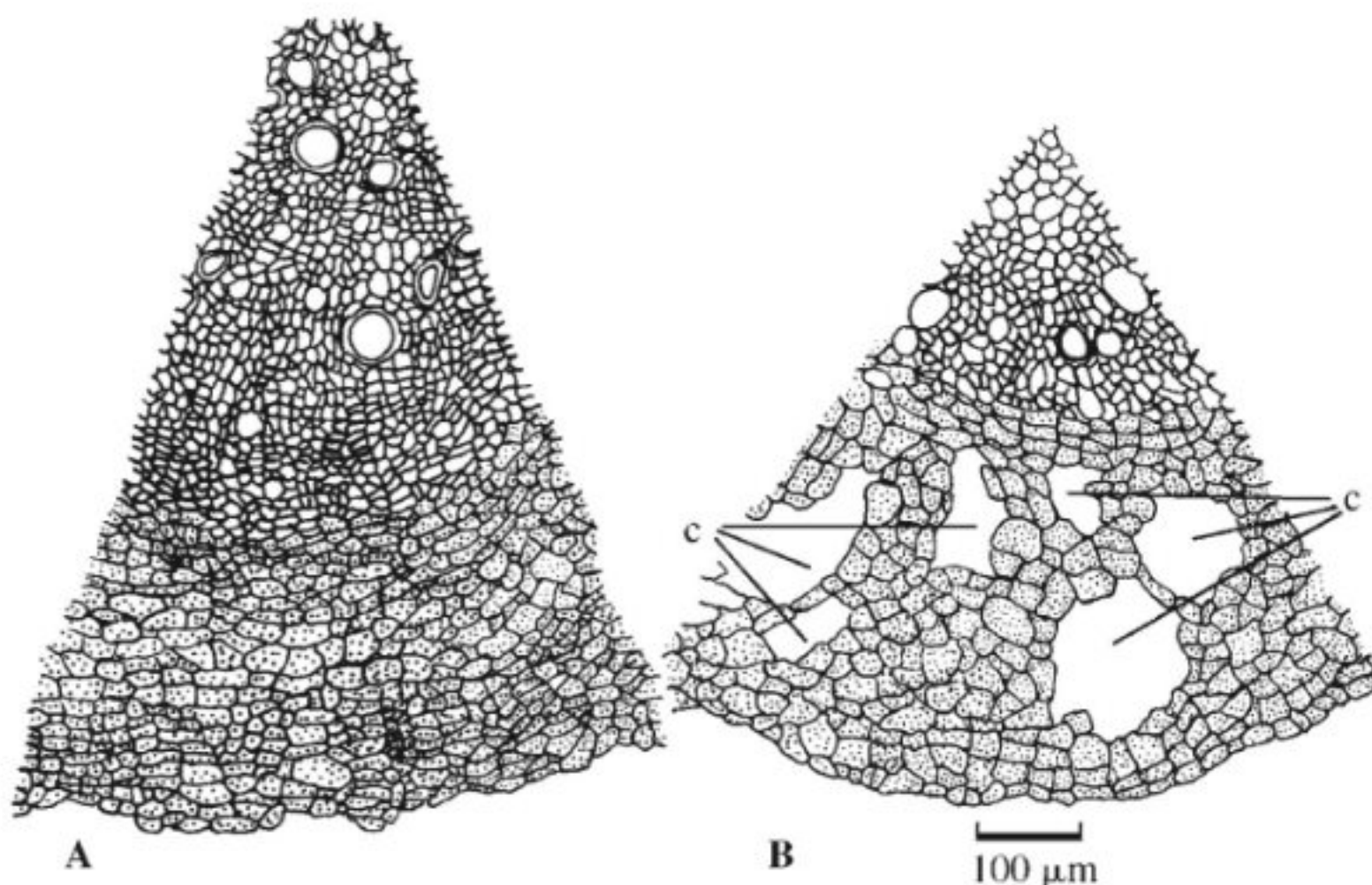
**FIGURA 13.18**

Massa seca (g) das raízes adventícias desenvolvidas em espécies de *Rumex* crescidas em um gradiente de ambientes secos a úmidos nas margens do rio Reno (Holanda). Os valores correspondem à média de 3 amostras \pm erro padrão. 1. *R. thyriflorus*; 2. *R. acetosa*; 3. *R. obtusifolius*; 4. *R. conglomeratus*; 5. *R. crispus*; 6. *R. palustris*. (Modificada de Voesenk e Van Der Veen, 1994.)

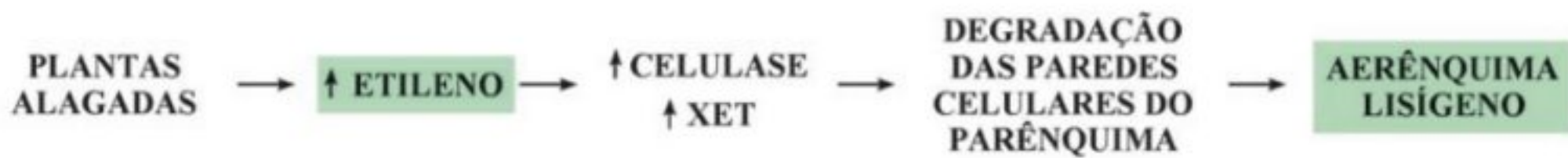
atua como um pré-requisito para a formação de raízes, conforme observado em *Rumex palustris*. A formação desses órgãos pode ser mais intensa em plantas encontradas em solos úmidos do que em solos mais secos, como verificado em várias espécies de *Rumex* encontradas nas margens do rio Reno na Holanda (Fig. 13.18).

AERÊNQUIMA

A anatomia das raízes pode ser profundamente alterada em plantas submetidas ao alagamento; nesses casos, desenvolvem-se raízes *aerenquimatosas*, cuja principal função é facilitar a aeração (Fig. 13.19). O aerênquima pode ser formado tanto pelo afas-

**FIGURA 13.19**

Câmaras aerenquimatosas (c) em cortes transversais de raízes secundárias de *Spatodea campanulata*. A. Plantas em solo drenado. B. Plantas em solo alagado. (Medri e Correa, 1985.)

**FIGURA 13.20**

Representação esquemática das etapas envolvidas na formação de aerênquima lisígeno.

tamento de células (aerênquima esquizógeno), quanto através da lise celular (aerênquima lisígeno). O aumento na circulação do ar promovido pelo aerênquima possibilita a síntese de ATP, mesmo quando as raízes se encontram submersas em ambientes hipóxicos, como no caso de plantas de arroz, por exemplo.

O aerênquima resulta de células corticais específicas localizadas entre a endoderme e a epiderme; são células programadas geneticamente para morrer (morte celular programada). O acúmulo de etileno desencadeia a morte dessas células, levando à formação de um aerênquima lisígeno, resultante de um aumento do conteúdo de enzimas, como a celulase e a xiloglucano endotransglicosilase (XET), que afrouxa as paredes celulares. A celulase provoca a degradação das paredes celulares, a qual, juntamente com a desorientação dos microtúbulos, também induzida pelo etileno, resulta na morte das células do córtex das raízes, formando esse tipo de aerênquima (Fig. 13.20). Um bom exemplo da importância do etileno na formação do aerênquima lisígeno foi observado em raízes de milho; nestas, enquanto inibidores da síntese ou da ação do etileno inibiam a formação do aerênquima em plantas sob condição de hipóxia, nas plantas sob aerobiose tratamentos com etileno resultavam no desenvolvimento de aerênquima lisígeno.

REFERÊNCIAS

- Aharoni A, O'Connell AP. Gene expression analysis of strawberry achene and receptacle maturation using DNA microarrays. *J Exp Bot*, 2002; 53:2073-87.
- Bradford KJ, Yang SF. Xylem transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor, in waterlogged tomato plants. *Plant Physiol*, 1980; 65:322-6.
- Chang C, Shockey JA. The ethylene-response pathway: signal perception to gene regulation. *Current Opinion in Plant Biology*, 1999; 2:352-8.
- Chen Y, Etheridge N, Schaller GE. Ethylene signal transduction. *Annals of Botany*, 2005; 95:901-15.
- Colli S. Aspectos hormonais, anatômicos e do desenvolvimento de duas espécies de *Croton* submetidas ao alagamento. *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- Danon A, Delorme V, Mailhac N, Gallois P. Plant programmed cell death: A common way to die. *Plant Physiol Biochem*, 2000; 38:647-5.
- Hyodo H, Fujinami H, Okada E, Mochizuki T. Wound-induced ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase in mesocarp tissue of *Cucurbita maxima*. In: Clijsters H, De Proft M, Marcelle R, Van Poucke M (eds). *Biochemical and Physiological Aspects of Ethylene Production in Lower and Higher Plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1989, pp 229-36.
- Medri ME, Correa MM. Aspectos histoquímicos e bioquímicos de *Joannesia principis* e *Spatodea campanulata*, crescentes em solos em capacidade de campo, encharcado e alagado. *Semina*, 1985; 6:147-54.

- _____, Bianchini E, Pimenta JA, Delgado MF, Correa GT. Aspectos morfo-anatômicos e fisiológicos de *Pelthophorum dubium* (Spr.) Taub. submetida ao alagamento e à aplicação de Ethrel. *Revta Brasil Bot*, 1998; 21:261-7.
- Riov J, Yang SF. Ethylene and auxin-ethylene interaction in adventitious root formation in mung bean cuttings. In: Clijsters H, De Proft M, Marcelle R, Van Poucke M (eds). *Biochemical and Physiological Aspects of Ethylene Production in Lower and Higher Plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1989, pp 151-6.
- Rogers HJ. Programmed cell death in floral organs: How and why do flowers die? *Ann Bot*, 2006; 97:309-5.
- Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Two-component systems in plant signal transduction. *Trends in Plant Science*, 2000; 5:67-74.
- Voisenk LACJ, Van Der Veen R. The role of phytohormones in plant stress: too much or too little water. *Acta Bot Neerl*, 1994; 43:91-127.
- Wang KL, Li H, Ecker JR. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell*, 2002; 14:S131-S51.
- Watson R, Wright CJ, McBurney T, Taylor AJ, Linforth RST. Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavour compounds. *J Exp Bot*, 2002; 53:2121-9.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Abeles FB, Morgan OW, Saltveit ME. *Ethylene in Plant Biology*, 2ª ed. New York: Academic Press, 1992.
- Alexander L, Grierson D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. *J Exp Bot*, 2002; 53:2039-55.
- Barendse GWM, Peeters TJM. Multiple hormonal control in plants. *Acta Bot Neerl*, 1995; 44:3-17.
- Bleecker AB, Patterson SE. Last exit: senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 1997; 9:1169-79.
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000.
- Gaspar T, Kevers C, Penel C, Greppin H, Reid DM, Thorpe TA. Plant hormones and growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 1996; 32:272-89.
- Giovannoni J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001; 52:725-49.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. New York: John Wiley & Sons, 1995, pp 285-337.
- Kumar PK, Lakshmanan P, Thorpe TA. Regulation of morphogenesis in plant tissue culture by ethylene. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 1998; 34:94-103.
- McKeon TA, Fernández-Maculet JC, Yang SF. Biosynthesis and metabolism of ethylene. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995, pp 118-39.
- Picton S, Gray JE, Grierson D. Ethylene genes and fruit ripening. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995, pp 372-94.

- Reid MS. Ethylene in plant growth, development, and senescence. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995; p. 486-508.
- Roberts JA, Elliott KA, Gonzalez-Carranza ZH. Abscission, dehiscence, and other cell separation processes. *Annu Rev Plant Biol*, 2002; 53:131-58.
- Taiz T, Zeiger E. *Plant Physiology*, 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, Publishers, 2002; p. 651-70.
- Thomas H, Ougham HJ, Wagstaff C, Stead AD. Defining penescence and death. *J Exp. Botany*, 2003; 54:1127-1132.
- White PJ. Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *J Exp Bot*, 2002; 53:1995-2000.
- Yang SF. Biosynthesis of ethylene and its regulation. In: Friend J, Rhodes MJC (eds). *Recent Advances in the Biochemistry of Fruit and Vegetables*. London: Academic Press, 1981, pp 89-106.
- Yung KH, Yang SF, Schlenk F. Methionine synthesis in apple tissue. *Biochem Biophys Res Commun*, 1982; 104:771-7.

Outros Reguladores: Brassinosteróides, Poliaminas, Ácidos Jasmônico e Salicílico

Sandra Colli

INTRODUÇÃO

As plantas produzem uma grande quantidade de compostos orgânicos envolvidos no controle do desenvolvimento. Dentre estes, citam-se os hormônios vegetais clássicos, como as auxinas, as citocininas, as giberelinas, o etileno e o ácido abscísico, os quais têm sido bastante estudados nos últimos 50 anos.

Mais recentemente, alguns outros compostos que podem afetar o crescimento e o desenvolvimento vegetal têm sido descritos, embora muitas dúvidas ainda permaneçam quanto à classificação dessas substâncias como hormônios vegetais. Esses compostos são os brassinosteróides, as poliaminas, o ácido jasmônico e o ácido salicílico.

BRASSINOSTERÓIDES

Na década de 60, foi elaborada a hipótese de que o rápido crescimento dos grãos de pólen poderia estar associado à presença de promotores de crescimento, proporcionando a descoberta dos brassinosteróides. Extrato de pólen de *Brassica napus* induziu um rápido alongamento de internós de caule de feijão, resposta distinta daquela mediada por giberelinas. Novos estudos foram feitos com *Brassica napus*, possibilitando o isolamento e a identificação do primeiro esteróide regulador de plantas, o brassinolídeo, em 1979. Atualmente, são conhecidos mais de 60 brassinosteróides, denominados em seqüência numérica após o sufixo de designação – Br.

Os brassinosteróides têm efeito biológico em concentrações baixas e são amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo encontrados nas algas, gimnospermas, mono e dicotiledôneas, seja nos botões florais, grãos de pólen, folhas, sementes, frutos, caules ou gemas. Nas raízes, essas substâncias ainda não foram observadas.

Biossíntese dos brassinosteróides

Os brassinosteróides são derivados do esteróide vegetal campesterol, após reações de redução e oxidações. O campesterol é reduzido a campestenol, e este oxidado a catasterona e a teasterona, precursores do brassinolídeo (Fig. 14.1).

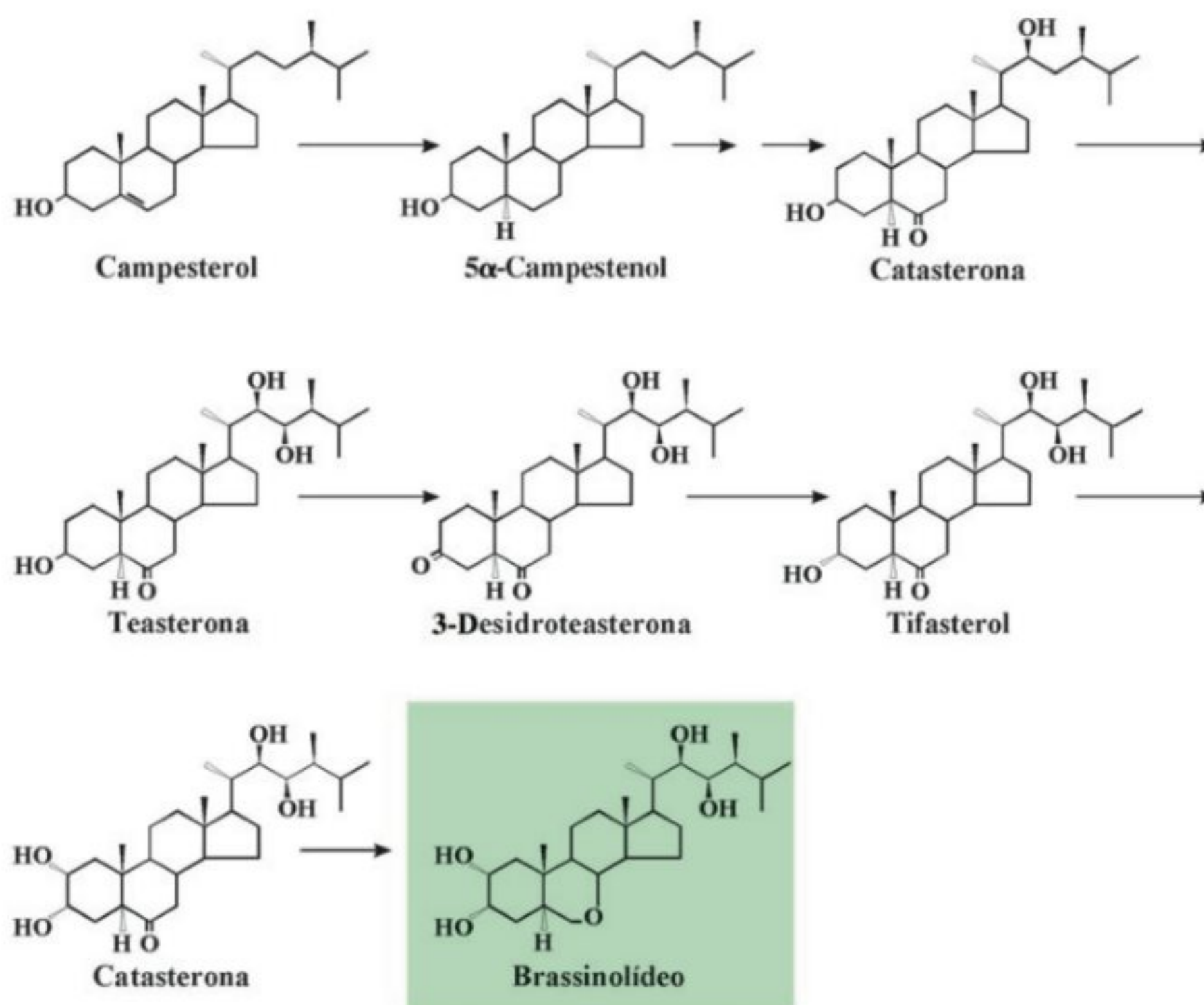
Os inúmeros brassinosteróides são diferenciados estruturalmente por serem esteróides com 27, 28 ou 29 carbonos na sua estrutura. O brassinolídeo com 28 carbonos apresenta alta atividade biológica.

Funções dos brassinosteróides

Tratamentos com brassinosteróides promovem o alongamento de caules, tendo sido sugerido que o afrouxamento das paredes celulares do hipocótilo de *Brassica chinensis* ocorre sem alteração de suas propriedades mecânicas. Plantas mutantes não-produtoras de brassinosteróides de *Arabidopsis* e de *Pisum sativum* apresentam um tamanho reduzido, enquanto a aplicação dessas substâncias resultou num aumento no tamanho das células, sugerindo seu envolvimento no alongamento celular.

Apesar de os brassinosteróides e auxinas apresentarem efeitos similares, nas raízes essas substâncias agem de maneira distinta: enquanto o AIA estimula, o Br apresenta um efeito inibitório sobre o crescimento desses órgãos. O crescimento do tubo polínico, assim como o desenrolamento das folhas de Gramineae, a ativação de bombas de prótons e a reorganização das microfibrilas de celulose são processos promovidos pelos brassinosteróides. Essas substâncias são importantes na diferenciação do xilema, como observado em *Zinia elegans*.

Através do uso de mutantes de *Arabidopsis*, com comprometimento na síntese de brassinosteróides, sugere-se que essas subs-

**FIGURA 14.1**

Via esquemática da biossíntese dos brassinosteróides.

tâncias seriam importantes em processos de desenvolvimento afetados pela luz. A luz poderia regular sua biossíntese ou alterar a resposta das células a essas substâncias.

O reconhecimento dos brassinosteróides como hormônio vegetal endógeno ainda é incerto, especialmente devido à similaridade de seus efeitos às auxinas, além de sua aplicação resultar em fenótipos com interações complexas entre os hormônios clássicos: AG, ABA, etileno e citocininas.

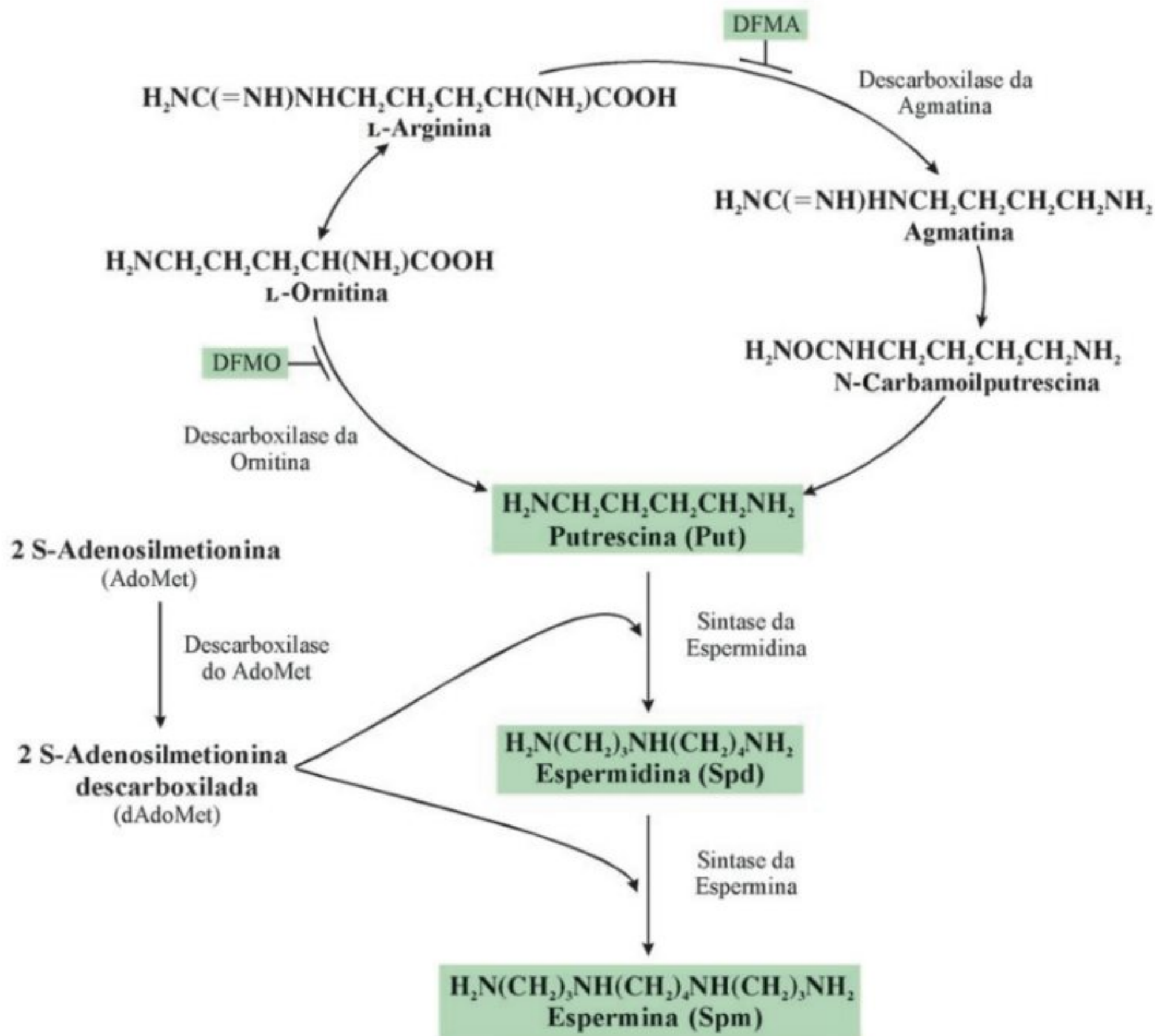
POLIAMINAS

As poliaminas (PAs) são comumente encontradas em todas as células, tanto em animais quanto em plantas. Somente a partir da década de 1980, o papel das PAs na atividade metabólica das células vegetais passou a ser investigado, embora essas substâncias sejam um dos mais antigos compostos orgânicos conhecidos pela ciência. Os tipos de poliaminas encontradas são: as putrescinas – Put (diaminas), as espermidinas – Spm (triaminas) e as esperminas – Spd (tetraminas). Apesar de poliaminas estarem envolvidas em um grande número de processos do desenvolvimento vegetal, participando direta ou indiretamente de várias vias metabólicas essenciais para o funcionamento celular, essas substâncias são necessárias em concentrações maiores do que os hormônios convencionais para a produção de um mesmo efeito. Portanto, considerá-las como hormônio vegetal ainda é controverso.

A importância dessas substâncias em procariontes e eucariontes, incluindo as plantas superiores, é mostrada em mutantes que perderam a habilidade de sintetizá-las, apresentando crescimento e desenvolvimento alterados. A adição de PAs, nesses mutantes, restaura os padrões normais de crescimento e desenvolvimento evidenciando o papel essencial das poliaminas para todas as células. Além disso, a aplicação das substâncias inibidoras α -difluorometilornitina (DFMO) e α -difluorometilarginina (DFMA), que agem específica e irreversivelmente nas principais enzimas da síntese de PAs (ornitina descarboxilase e arginina descarboxilase, respectivamente), proporciona uma diminuição ou estagnação do crescimento e desenvolvimento.

Biossíntese das poliaminas em plantas

A putrescina é sintetizada a partir da L-arginina (Fig. 14.2) através de duas vias metabólicas: a primeira envolvendo a L-ornitina, obtida pela ação da ornitina descarboxilase (ODC), e a segunda via através da obtenção da agmatina pela ação da arginina descarboxilase (ADC), enzima essa modulada pela luz na maioria dos tecidos. Essas rotas podem variar dependendo da espécie ou de outros fatores, como é sugerido para a formação de putrescina através da ADC em resposta ao estresse. A sintase da espermidina catalisa a conversão de putrescina em espermidina, e a sintase da espermina regula a conversão de espermidina em espermina.

**FIGURA 14.2**

Via esquemática da biossíntese das poliaminas. O composto L-arginina origina duas vias: a da L-ornitina e a da agmatina, que são precursores das poliaminas (putrescina, espermidina e espermina). As poliaminas e o etileno compartilham o precursor S-adenosilmetionina. As substâncias DFMA (α -difluorometilarginina) e DFMO (α -difluorometilornitina) são inibidoras da síntese das poliaminas.

Ambas as enzimas transferem um grupo aminopropil da S-adenosilmetionina descarboxilada (dSAM) para seus respectivos substratos. A dSAM é obtida pela ação da descarboxilase da SAM que converte SAM (AdoMet) em dSAM. Essa reação é uma etapa limitante na via biossintética das poliaminas.

A biossíntese das poliaminas é geralmente promovida na presença de auxinas, citocininas e giberilinas, enquanto o etileno pode exercer um papel oposto, regulando a atividade da descarboxilase da arginina. Entretanto, as PAs inibem a síntese de etileno, bloqueando a conversão de ACC a esse gás. Esse antagonismo mútuo pode, em parte, ser explicado pelo compartilhamento do precursor comum, S-adenosilmetionina (SAM ou AdoMet), entre as poliaminas e o etileno.

Funções celulares das poliaminas

As poliaminas podem ser encontradas em vacúolos, mitocôndrias, cloroplastos e principalmente associadas às paredes celulares, nas

formas livres ou conjugadas com ácidos fenólicos (ácidos cinâmico, ferúlico ou p-cumárico). Esses conjugados podem, eventualmente, constituir até 90% do total das PAs nas células.

As PAs, sendo policatiônicas, afetam o pH celular, podendo se ligar a importantes poliânions como o DNA, RNA, fosfolipídios e proteínas ácidas, assim como a grupos aniônicos de membranas e da parede celular.

As poliaminas podem estabilizar a dupla hélice da estrutura do DNA e as membranas, interagindo com os resíduos de fósforo, alterando a atividade das enzimas localizadas nas membranas. Mudanças na fluidez e na estrutura fina das membranas podem ser mediadas por PAs.

As PAs são também consideradas como estimulatórias da síntese de macromoléculas, como as proteínas, além de estimular síntese das cinases e da frutose-1,6-bisfosfato.

A putrescina pode representar uma fonte de carbono para a formação do anel pirrólico precursor da nicotina e de outros alcalóides. Nas Crassulaceae, essa substância tem sua síntese estimu-

lada com o aumento da secreção de ácido málico no citoplasma, podendo atuar como tampão do pH celular nessas plantas.

Funções das poliaminas no desenvolvimento vegetal

As poliaminas parecem estar envolvidas na divisão e alongamento celulares, no enraizamento e na formação de tubérculos. Eventualmente, essas substâncias podem ser usadas como substitutas do tratamento com auxinas, sugerindo uma atividade como mensageiros secundários dessa classe hormonal.

Alguns autores sugerem que a conversão de putrescina para espermidina seria um ponto importante de controle na taxa de divisão celular, enquanto as espermidinas e as esperminas seriam necessárias para a transição da fase G1 para a fase S na divisão celular.

As poliaminas podem afetar a iniciação floral, sendo importantes para o desenvolvimento de flores normais, como observado em flores alteradas de plantas de tabaco obtidas a partir de protoplastos cultivados sob altos níveis de inibidores da biossíntese de PAs.

Na embriogênese somática, observa-se um aumento na atividade da enzima ADC, bem como uma elevação no teor de espermidina. A aplicação de inibidores da biossíntese de PAs provoca inibição da embriogênese, sugerindo um envolvimento dessas substâncias nesse processo.

Por sua vez, na senescência há um declínio de PAs. A aplicação de baixas concentrações de PAs em folhas de mono ou dicotiledôneas pode retardar ou prevenir os processos relacionados com a senescência, como o declínio de clorofila, proteínas e RNA.

Além desses processos, as PAs estão envolvidas na maturação de frutos e de grãos de pólen, na formação adventícia de ramos e de raízes e na diferenciação vascular.

ÁCIDO JASMÔNICO

O ácido jasmônico (AJ) e seu metil éster aromático e volátil, o metil jasmonato (MeJa), estão envolvidos em vários processos fisiológicos. Esses compostos foram inicialmente detectados e identificados em *Jasminum* e *Rosarinus*, mas atualmente sabe-se que são amplamente produzidos no reino vegetal. O metil jasmonato e um composto estruturalmente similar, o *cis*-jasmonato, são bastante aplicados na indústria de perfumes como componentes do óleo essencial de jasmim (*Jasminum grandiflorum*).

Biossíntese do ácido jasmônico

A via biossintética do ácido jasmônico (Fig. 14.3) depende da ação seqüencial de várias enzimas. A lipoxigenase promove a oxigenação do ácido linolênico até a formação do ácido 13-hidroperoxilinolênico. O ácido 12-oxo-fitodienóico é formado a partir da ciclização do anel ciclopentanona e reações de β -oxidações que encurtam a cadeia lateral, com a produção final do ácido jasmônico.

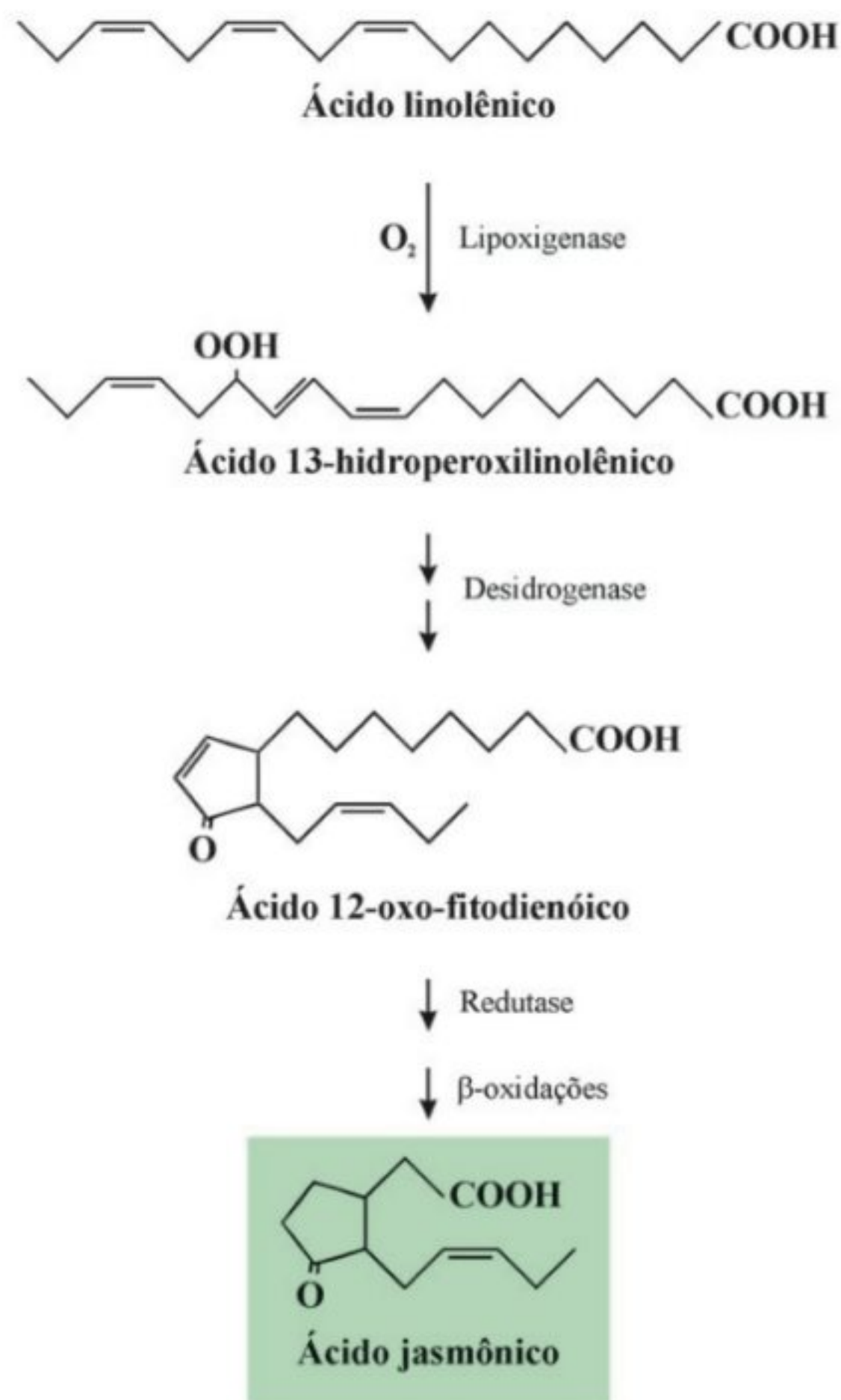


FIGURA 14.3

Via esquemática da biossíntese do ácido jasmônico em plantas.

Em geral, a concentração do ácido jasmônico e do metil jasmonato é similar àquela observada para o ácido abscísico, sendo suficiente para as respostas fisiológicas.

Funções do ácido jasmônico

Assim como o ABA, o AJ é inibidor do crescimento e da germinação de sementes, além de promover a senescência. A aplicação de AJ inibe o crescimento de raízes e de caules. A inibição do alongamento de coleóptiles pelo ácido jasmônico pode ser associada ao bloqueio na incorporação de glicose nos polissacarídeos das paredes celulares.

A aplicação do ácido jasmônico causa um comprometimento da fotossíntese, reduzindo a expressão de genes situados no núcleo e nos cloroplastos, além de causar degradação de clorofilas em folhas. O AJ provoca também a senescência e a abscisão de folhas. A aplicação do ácido jasmônico estimula a formação de tubérculos, além de induzir o amadurecimento de frutos e a formação

de pigmentos, através do aumento na produção da oxidase do ACC, promovendo a passagem do ACC (ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico) a etileno.

Alguns autores sugerem a participação do ácido jasmônico na expressão de genes envolvidos na defesa e na sinalização das respostas aos estresses (herbivoria, dessecação, mecânico ou osmótico). Em plantas afetadas por ferimentos ou patógenos, sinais que eventualmente ativam as lipases, como a sistemina (um polipeptídeo), promovem a formação do ácido jasmônico (Fig. 14.4). Evidências recentes sugerem que o ácido jasmônico, em certos casos, também poderia agir como agente antifúngico. Além disso, promovem a síntese de proteínas antidigestivas, como as proteinases inibidoras que bloqueiam a ação das enzimas proteolíticas, no trato digestivo dos herbívoros.

O fato de muitas respostas das plantas serem influenciadas por vários reguladores de crescimento interagindo de maneira complexa, torna difícil o entendimento dos seus mecanismos de controle do crescimento e do desenvolvimento, assim como de suas respostas ao ambiente. O ácido jasmônico está emergindo como um elemento importante para auxiliar na elucidação de um quadro mais completo da regulação nas plantas.

ÁCIDO SALICÍLICO

O ácido salicílico (AS) pertence ao grupo bastante diverso dos compostos fenólicos usualmente definidos como substâncias com um anel aromático ligado a um grupo hidroxil ou ao seu derivado funcional. O ácido salicílico, denominado após ser encontrado na casca de *Salix*, é amplamente distribuído nas plantas tanto nas folhas quanto nas estruturas reprodutivas.

Biossíntese do ácido salicílico

O ácido salicílico é sintetizado através da via fenilpropanóide (Fig. 14.5), a partir da L-fenilalanina, que, por ação da fenilalanina amônio-liase (PAL), origina o ácido *trans*-cinâmico. A conversão do ácido *trans*-cinâmico a ácido benzóico pode envolver a β -oxidação, sintetizando substâncias intermediárias antes de formar o ácido benzóico. O ácido benzóico, através da enzima ácido benzóico-2-hidroxilase, é convertido em ácido salicílico, que pode ser conjugado à glicose pela ação da salicilato glucosil transferase, formando o ácido β -O-D glucosilsalicílico (GSA).

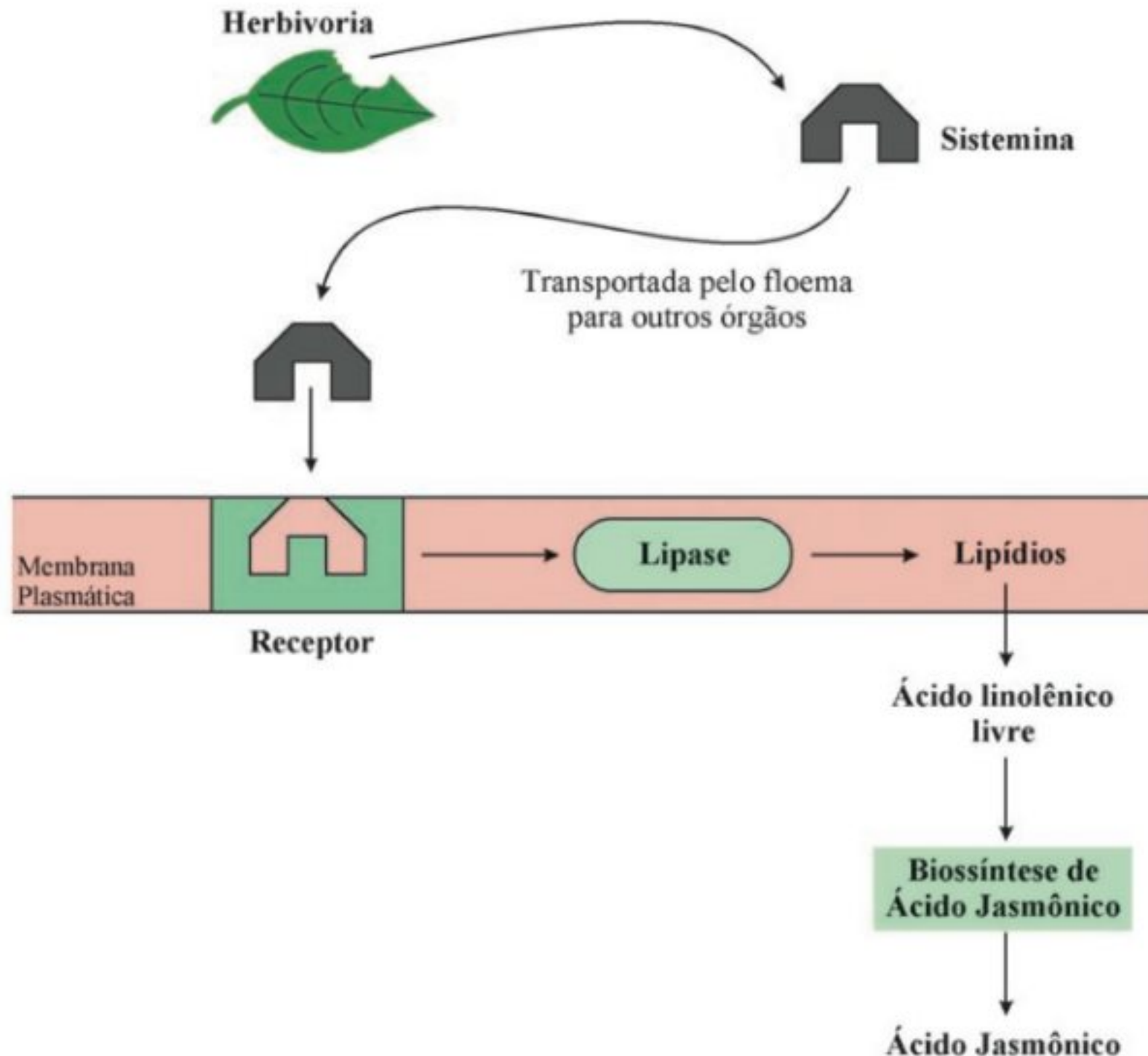
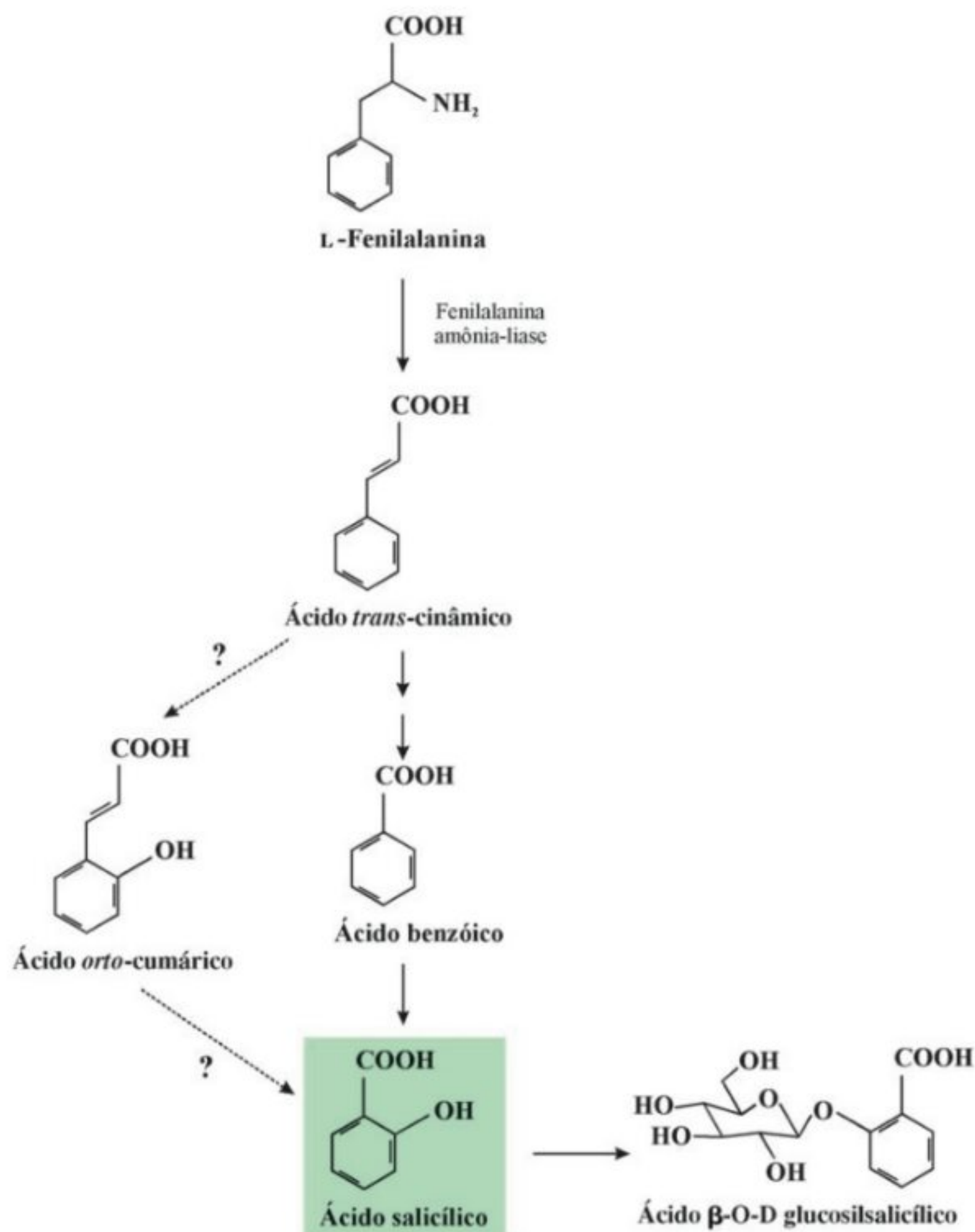


FIGURA 14.4

Em plantas feridas é desencadeada a formação da sistemina, que é transportada para outros órgãos da planta, ligando-se a um receptor, o que causa a ativação da lipase promovendo a formação do ácido jasmônico. (Modificado de Creelman e Mullet, 1997b; Taiz e Zeiger, 2002.)

**FIGURA 14.5**

Via esquemática da biossíntese do ácido salicílico em plantas.

Funções do ácido salicílico

A aplicação de ácido salicílico pode inibir a germinação e o crescimento da planta, interferir na absorção das raízes, reduzir a transpiração e causar a abscisão das folhas, bem como alterar o transporte de íons, induzindo uma rápida despolarização das membranas, ocasionando um colapso no potencial eletroquímico.

A floração foi promovida pelo ácido salicílico em tabaco cultivado *in vitro* e também em *Lemna gibba*, *Spirodella polyrrhiza* e *Wolffia microscopica*. Porém, esse efeito estimulatório não é específico dessa substância. A floração de plantas termogênicas, isto é, que produzem calor, como observado nos estróbilos masculinos de Cicadaceae e em flores ou inflorescências de algumas espécies de Annonaceae, Araceae, Aristochiadaceae, Cyclantaceae, Nymphaeaceae e Palmae, parece envolver o ácido salicílico. O aquecimento é associado a um aumento acentuado da via de transporte de elétrons na respiração resistente a cianet nas mitocôndrias, sendo o consumo de O₂ na inflorescência de Arum tão

elevado quanto o de um beija-flor durante o vôo. Um aumento na atividade das enzimas da glicólise e do ciclo de Krebs também foi observado. Em *Sauromatum guttatum*, o aumento de calor de cerca de 10–14°C acima da temperatura ambiente no apêndice da flor, facilita a volatilização de aminas e radicais indol, liberando o odor que atrai os insetos polinizadores. A análise do extrato calorífico indicou a presença de ácido salicílico, que, quando aplicado em segmentos imaturos de apêndice, também provocou um aumento de 12°C.

O ácido salicílico também está envolvido na defesa das plantas contra o ataque de microorganismos como os fungos, bactérias e vírus. Um aumento na concentração de AS livre foi observado próximo às lesões ocasionadas por esses microorganismos. Tanto o ácido salicílico quanto o ácido acetilsalicílico podem induzir a produção de, pelo menos, 5 grupos de proteínas relacionadas à patogenicidade, como a chiquinase e a β-1,3 glucanase, mesmo na ausência do patógeno. Frequentemente, a infecção é restrita

a pequenas áreas, onde células com reação de hipersensibilidade promovem a aquisição de resistência sistêmica, conferindo maior proteção contra ataques subseqüentes.

Uma prática comum para prolongar a duração de flores de corte é o uso de aspirinas, nome comercial do ácido acetilsalicílico, dissolvidas na água, quando haverá liberação do ácido salicílico. Nesse caso, o ácido salicílico seria responsável pela inibição da biossíntese do etileno, bloqueando a passagem de ACC ao gás ou evitando o acúmulo de sintase do ACC, como observado em tecidos feridos de tomates.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

Arteca RN. Brassinosteroids. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, pp 206-213.

Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Maryland, 2000.

Creelman RA, Mullet JE. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *The Plant Cell*, 1997a; 9:1099-1107.

Creelman RA, Mullet JE. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997b; 48: 355-381.

Galston WA, Kaur-Sawhney R. Polyamines as endogenous growth regulators. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, pp 158-178.

Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiles & Sons, New York, 1995, pp 285-337.

Raskin I. Salicylic acid. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, pp 188-205.

Staswick PE. Jasmonate activity in plants. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, pp 179-187.

Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. 2nd ed. Sinauer Associates, Inc, Publishers, Sunderland, 2002, pp 651-670.

Fotomorfogênese em Plantas

Nidia Majerowicz e Lázaro Eustáquio Pereira Peres

INTRODUÇÃO

A percepção de mudanças na radiação ambiental é de enorme relevância para a maioria dos organismos, de procariotos a eucariotos superiores. Entretanto, essa capacidade de perceber a luz e responder a ela é especialmente importante para organismos sésseis como as plantas. Para estas, a luz é um recurso ambiental crítico que provê energia para a biossíntese de todas as moléculas orgânicas. A limitação de luz no interior de uma comunidade vegetal pode acarretar redução do crescimento e da reprodução. As pressões de seleção impostas pela necessidade das plantas de se adaptarem com sucesso à luz ambiental condu-

ziram à evolução de mecanismos de fotopercepção notavelmente sofisticados (Smith & Whitelam, 1990; Nagy & Schäfer, 2002).

As plantas podem perceber gradientes de luz e diferenças sutis na composição espectral, sendo capazes de detectar se estão sombreadas, sob luz solar plena ou, mesmo, início ou final do dia. A luz é, portanto, um *sinal ambiental* que, ao ser percebido, desencadeia mudanças no metabolismo e no desenvolvimento das plantas. A Fig. 15.1 traça um quadro das ações biológicas da luz em plantas, sem incluir seus efeitos sobre a fotossíntese. Praticamente todas as características físicas da radiação ambiental podem modificar o comportamento

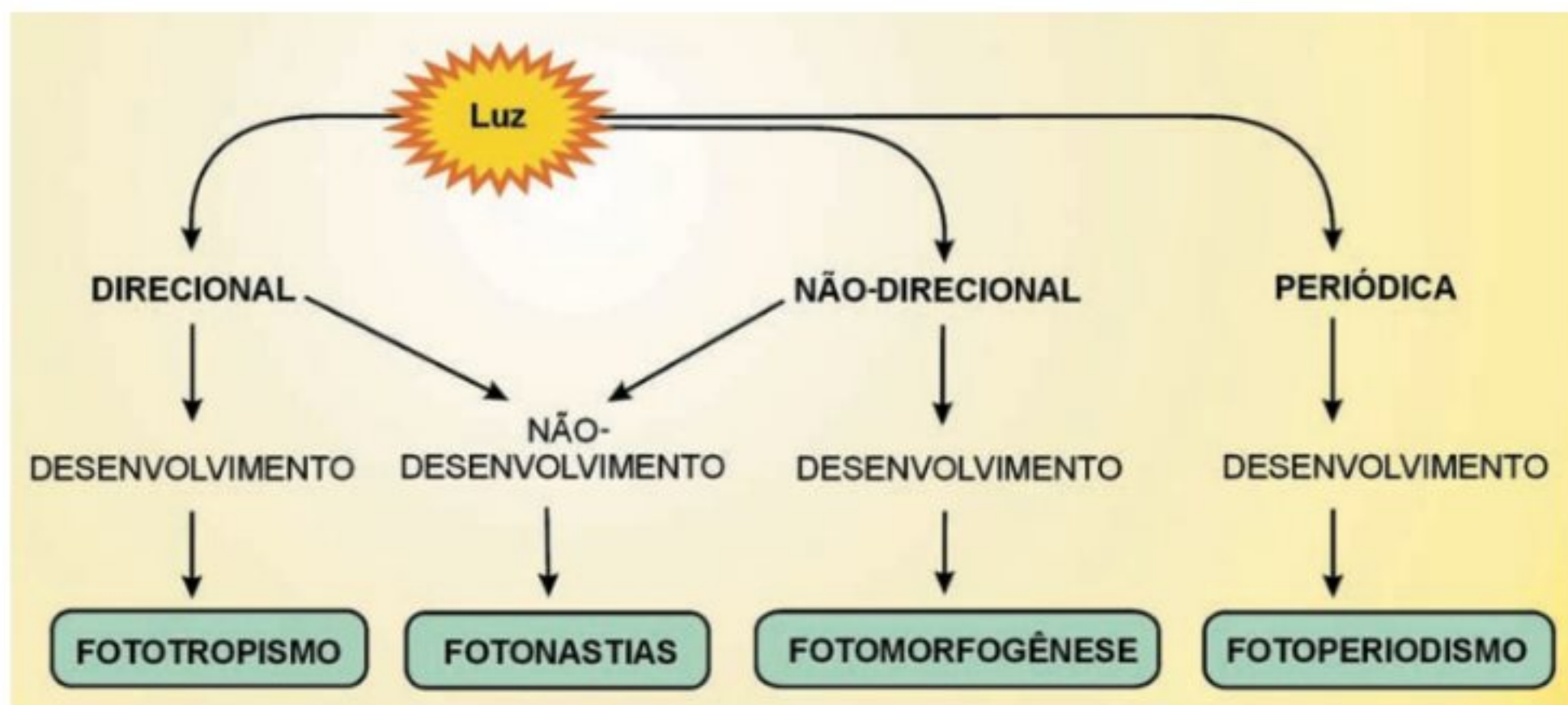


FIGURA 15.1

Vários fenômenos fisiológicos de plantas são controlados pela luz. Muitos deles dependem de propriedades físicas da luz incidente, tais como direção, qualidade espectral e periodicidade.

(movimento de organelas e órgãos) e o desenvolvimento das plantas:

1. Direção (ver Caps. 9 e 16);
2. Intensidade (quantidade de fótons por unidade de área ou $\mu\text{mol fótons m}^{-2}$);
3. Qualidade (comprimentos de onda presentes na radiação); e
4. Periodicidade (fotoperíodo).

Isso significa que os conteúdos informativos presentes na luz podem ser utilizados pelas plantas de muitas maneiras, tendo como consequência mudanças no seu crescimento, forma e reprodução. A informação detectada é utilizada para otimizar o crescimento em função da luz ambiente, permitindo que a estrutura fotossintética funcione eficientemente ao longo do desenvolvimento (Chory, 1997). A luz exerce efeitos dramáticos sobre a morfogênese de plântulas na transição entre o desenvolvimento heterotrófico (vida sob o solo) e o desenvolvimento autotrófico (Fig. 15.2), a germinação de alguns tipos de sementes, o florescimento e a formação de órgãos de reserva (Chory, 1997; Kendrick & Kronenberg, 1994).

A percepção do sinal luminoso requer que a luz seja absorvida e torne-se fotoquimicamente ativa, o que é efetuado por *fotorreceptores* ou pigmentos especializados. Ao absorver seletivamente diferentes comprimentos de onda, o fotorreceptor “lê” o conteúdo informativo contido na luz do ambiente e o transforma em uma ação primária no interior das células. Ao tornar-se fotoquimicamente ativo, o fotorreceptor desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos, denominada via de transdução (transmissão) de sinais que, em última instância, conduz a respostas metabólicas e de desenvolvimento.

A maior parte das respostas fotomorfogênicas das plantas superiores parece estar sob controle de quatro classes de fotorreceptores (Nagy & Schäfer, 2002):

1. Fitocromos – absorvem principalmente vermelho (650–680 nm) e vermelho-extremo (710–740 nm); absorvem também azul (425–490 nm);
2. Criptocromos – têm picos máximos de absorção no azul (425–490 nm) e na banda do UVA – ultravioleta A (320–400 nm);
3. Fotorreceptores de luz na banda do UVB – ultravioleta B (280–320 nm) ainda não identificados em nível molecular;
4. Fototropinas – absorvem principalmente luz azul (400–500 nm) – proteínas associadas ao fototropismo.

A radiação ambiental, através dos fotorreceptores, modula de modo profundo a morfogênese de tecidos e órgãos das plantas (*fotomorfogênese*) em todas as etapas do seu desenvolvimento. Os fitocromos e os criptocromos estão envolvidos na maioria dos processos fotomorfogênicos em plantas. A observação cuidadosa da Fig. 15.2 indica a multiplicidade de vias metabólicas e rotas de desenvolvimento controladas pela luz durante o estabelecimento de plântulas. O alongamento do hipocótilo e do coleóptile é rápido no escuro e tipicamente inibido pela luz. A luz, por

outro lado, estimula a abertura do gancho apical, a expansão de cotilédones e folhas primárias, o desenvolvimento radicular, a atividade da gema apical (pepino) e dos meristemas intercalares (milho), a formação dos cloroplastos e de todas as proteínas e pigmentos fotossintéticos, a biossíntese de compostos do metabolismo secundário como antocianinas e moléculas precursoras da síntese de ligninas, necessárias à formação das fibras e indispensáveis à sustentação.

As plântulas crescidas no escuro são ditas *estioladas*, apresentando tipicamente caule muito alongado, ausência de clorofilas, folhas ou cotilédones não expandidos e gancho apical fechado, em caso de dicotiledôneas (Fig. 15.2). Também são designadas estioladas as plantas intolerantes à sombra crescidas em ambientes com limitação de luz. Estas apresentam caules mais longos e menor ramificação lateral do que plantas semelhantes crescidas sob luz solar direta.

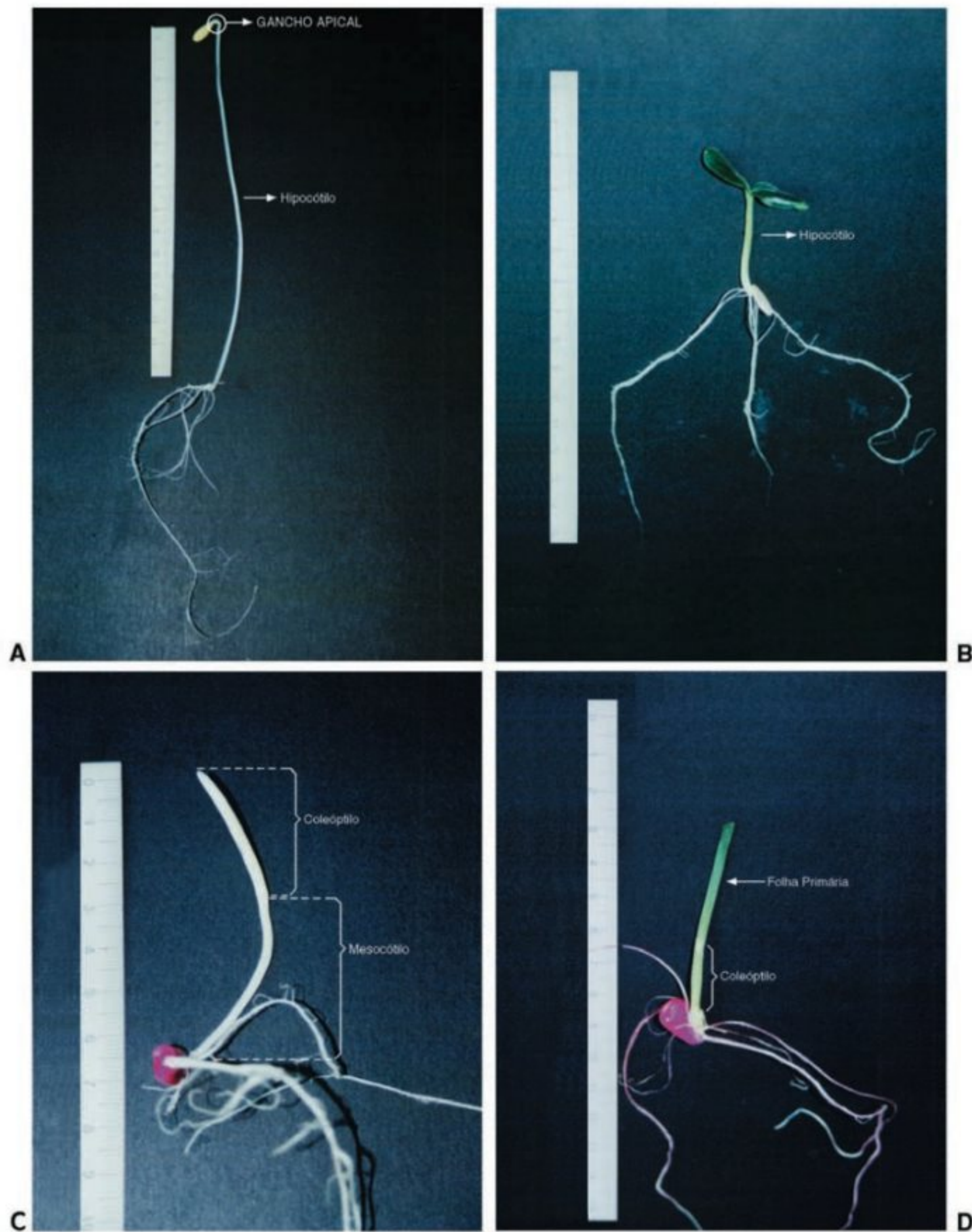
O presente capítulo tratará do papel da luz no controle da fotomorfogênese das plantas e de seus principais fotorreceptores, os fitocromos e os criptocromos.

FITOCROMO E CONTROLE DO DESENVOLVIMENTO

Descoberta do fitocromo

Em muitas espécies, a presença de luz estimula a germinação das sementes (aumenta a germinabilidade e velocidade de germinação). Tais sementes são denominadas *fotoblásticas positivas*. Sementes cuja germinação é inibida pela luz são designadas *fotoblásticas negativas*. Na década de 1930, Flint e McAlister demonstraram que sementes fotoblásticas positivas de alface (*Lactuca sativa* cv *Grand Rapids*) apresentavam germinação máxima após irradiação de luz vermelha (V) e que a germinação era inibida após irradiação com luz vermelho-extrema (VE) (Labouriau, 1983).

A compreensão a respeito dos efeitos da luz sobre o desenvolvimento das plantas progrediu rapidamente, a partir da década de 1950, com os estudos do botânico H.A. Borthwick e do físico-químico S.B. Hendricks, que, juntamente com vários colaboradores, passaram a estudar o *espectro de ação* de vários fenômenos, tais como a germinação de sementes fotoblásticas positivas de alface, o alongamento do caule de ervilha e o controle fotoperiódico do florescimento. O espectro de ação corresponde a um gráfico que relaciona os diferentes comprimentos de onda do espectro eletromagnético às respostas fotobiológicas. Ou seja, o espectro de ação mostra como cada um dos comprimentos de onda afeta quantitativamente eventos fotobiológicos, como a germinação de sementes fotoblásticas, as taxas de alongamento do caule e o percentual de plantas induzidas a florescer. Todo esse trabalho foi possível graças à montagem de um espectrógrafo especial que projetava, numa grande câmara escura, um espectro no qual a banda extrema correspondente ao violeta distava 2 metros da última banda (correspondente ao vermelho-extremo). Graças ao rigor e à precisão dessas condições de trabalho, foi

**FIGURA 15.2**

Plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) (A e B) e de milho (*Zea mays*) (C e D) 8 dias após início da germinação (embebição). As plântulas à esquerda (A e C) foram mantidas no escuro e as da direita (B e D) cresceram em presença de luz. De modo geral, plântulas crescidas no escuro, denominadas estioladas, são esbranquiçadas (sem clorofilas), alongadas (crescimento longitudinal acelerado), frágeis (não formam fibras), apresentando sistema radicular reduzido em comparação com as plântulas mantidas sob iluminação. Plântulas de milho (monocotiledônea) crescidas no escuro apresentam mesocótilo e coleóptilo alongados, e mantêm as folhas primárias enroladas no interior do coleóptilo. Plântulas de pepino (dicotiledônea) mantidas no escuro apresentam um longo hipocótilo, gancho plumular fechado e folhas primárias não expandidas em contraste com as plântulas crescidas em ambiente iluminado.

possível estabelecer resultados extremamente significativos (Labouriau, 1983):

1. Primeiramente, verificou-se que o espectro de ação era o mesmo nos três tipos de fenômenos de desenvolvimento estudados, com picos no vermelho (V) e no vermelho-extremo,

também chamado de vermelho-distante (VE). Isso conduziu Borthwick e Hendricks à hipótese de que um único pigmento era responsável pelo controle daqueles três eventos fisiológicos diferentes (germinação de sementes fotoblásticas, crescimento caulinar e controle fotoperiódico do florescimento).

TABELA 15.1
Fotorreversibilidade V-VE da germinação de sementes de alface (Borthwick et al., 1954)

Irradiação	% Germinação (20°C)
V	70
V,VE	6
V,VE,V	74
V,VE,V,VE	6
V,VE,V,VE,V	76
V,VE,V,VE,V,VE	7

2. Em seguida, a descoberta mais extraordinária foi a constatação da *fotorreversibilidade* daqueles fenômenos de desenvolvimento: os efeitos da luz vermelha podiam ser revertidos pela irradiação com vermelho-extremo e vice-versa, prevalecendo a resposta desencadeada pelo último comprimento de onda aplicado sobre as plantas ou sementes. Tal fotorreversibilidade jamais havia sido descrita na biologia.

Os dados apresentados na Tabela 15.1 e na Fig. 15.3 ilustram o que significa a fotorreversibilidade. Nesse estudo, sementes de alface, separadas em grupos, foram embebidas no escuro durante 3 horas, antes de serem submetidas a uma breve exposição a diferentes tratamentos luminosos. Os tratamentos foram 1 minuto de irradiação com luz vermelha (660 nm) ou 4 minutos de luz vermelho-extrema (730 nm), ou alternância sucessiva e imediata entre V e VE. Após tais tratamentos, as sementes eram reconduzidas ao escuro. Após 48 horas, o número de sementes germinadas de cada grupo foi contado. Observe que a germinação foi promovida pela luz V e inibida pela luz VE.

Tais observações conduziram Borthwick e Hendricks a propor a existência de um novo pigmento denominado *fitocromo*. O pigmento hipotético, na época, deveria existir em duas formas: uma forma com pico de absorção no vermelho (660 nm), o fitocromo forma V (Fv), e a outra forma com pico de absorção no vermelho-extremo (730 nm), o fitocromo forma

VE (Fve). Em inglês, a forma Fv do fitocromo é descrita como Pr (*red Phytochrome*), e a forma Fve é designada Pfr (*far-red Phytochrome*). A partir dos seus resultados experimentais, Borthwick e Hendricks propuseram que o fitocromo deveria ser sintetizado no escuro na forma Fv. A forma *fisiologicamente ativa* do fitocromo seria a forma Fve, muito instável, e que, no escuro, reverteria para a forma Fv por reações bioquímicas não-dependentes de luz (Fig. 15.4).

Fitocromo: uma família gênica

Até recentemente, o fitocromo era tratado como se fosse um fotorreceptor único com propriedades relativamente parecidas em todas as plantas e sob todas as condições. Contudo, hoje sabe-se que as plantas superiores, assim como as plantas inferiores e algas, apresentam vários genes para fitocromos. Estudos moleculares têm demonstrado que a parte polipeptídica desse fotorreceptor é codificada por uma família de genes. Em *Arabidopsis thaliana* foram identificados cinco genes, designados PHYA, PHYB, PHYC, PHYD e PHYE. Pesquisas com mutantes fotomorfogênicos e plantas transgênicas têm indicado que os múltiplos tipos de fitocromo podem apresentar funções fotosensoriais e fisiológicas distintas. De acordo com esses estudos, o fitocromo A (phyA), que, caracteristicamente, acumula-se no escuro e desaparece rapidamente em presença de luz, parece ter como papel primário a fotopercepção em plântulas estioladas, recentemente formadas, crescendo em comunidades vegetais sombreadas, onde predomina o vermelho-extremo. O fitocromo phyA é tipicamente instável em presença de luz. Depois de um pulso de luz saturante, phyA (Fve) sofre rápida degradação proteolítica (Fig. 15.5). Os níveis de phy B-E, por outro lado, são tão reduzidos no escuro e na luz que dificultam estudos espectroscópicos e imunoquímicos *in vivo*. O fitocromo B (phyB) parece ter um papel fotossensorial primário na iniciação do processo de desestiolamento em condições não sombreadas e na indução de respostas de escape ao sombreamento em plantas já completamente desestioladas (Quail, 1994; Nagy & Schäfer, 2002).

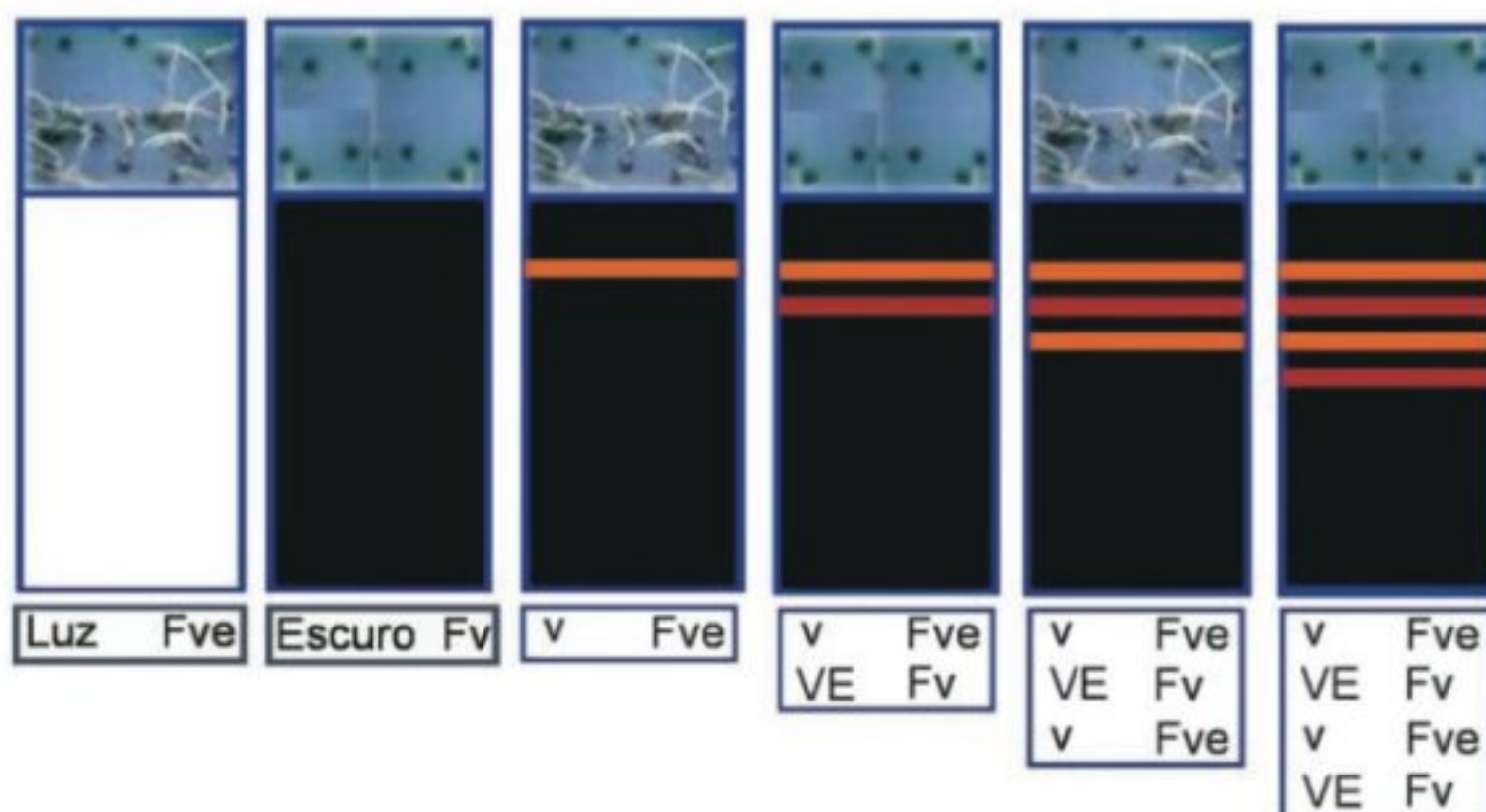


FIGURA 15.3

Sementes fotoblásticas positivas germinam após receberem um pulso (1 minuto) de luz de comprimento de onda vermelho (V). Esse efeito pode ser revertido se, em seguida, as mesmas sementes forem irradiadas alguns minutos com luz de comprimento de onda vermelho-extremo (VE). Quando tratamentos alternados de luz V e VE são aplicados sobre as sementes, a resposta observada será determinada pelo último comprimento de onda irradiado sobre as sementes. As estruturas brancas observadas nas fotografias são raízes formadas devido ao processo de germinação em curso após irradiação com luz V.

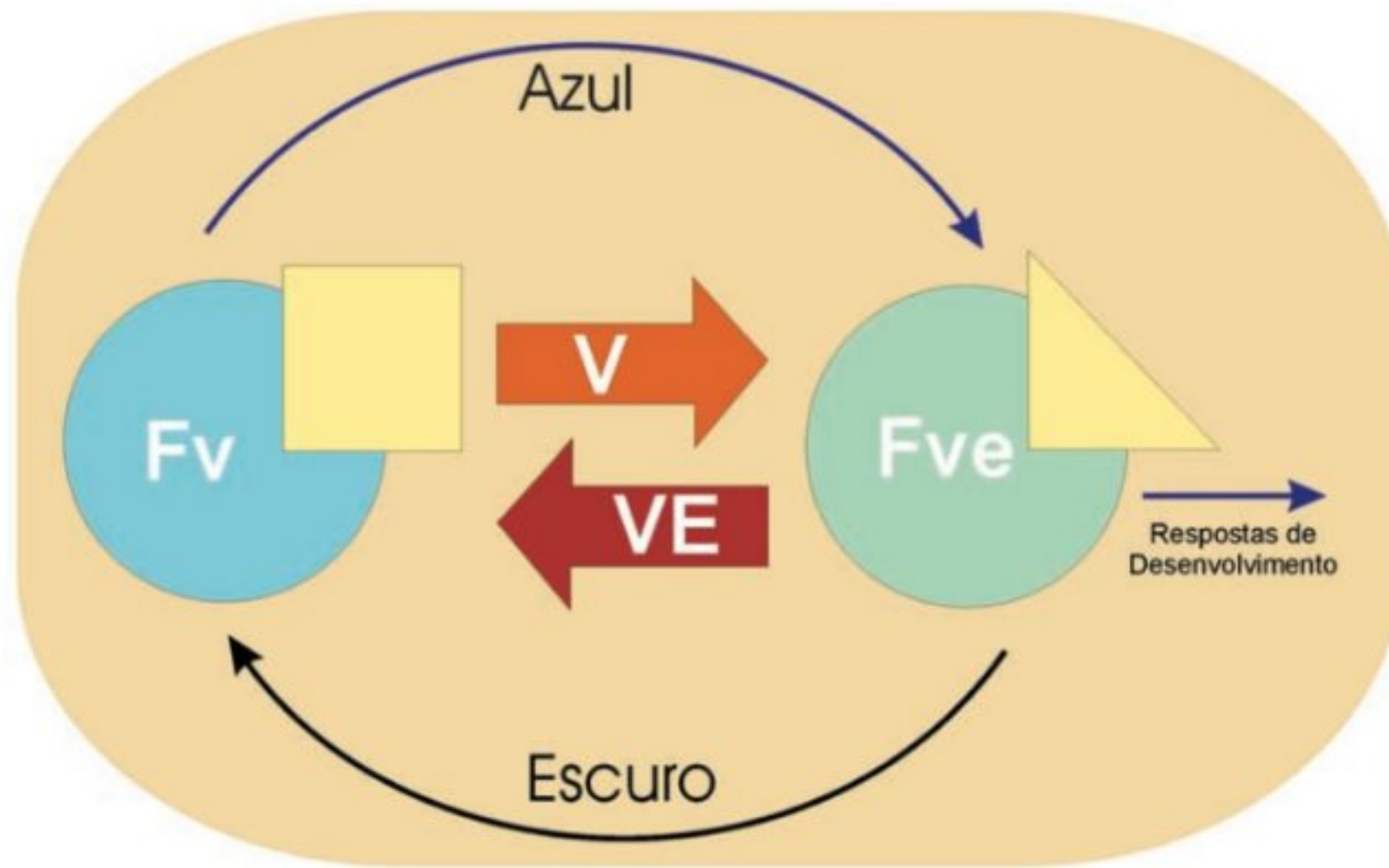


FIGURA 15.4

As duas formas fotorreversíveis do fitocromo, Fv e Fve, são correlacionadas com a indução de respostas metabólicas e de desenvolvimento. A fotoconversão da forma do fitocromo Fv a Fve é induzida por comprimento de onda no vermelho (V) e por luz azul, e a reversão de Fve a Fv é induzida por comprimento de onda no vermelho-extremo (VE) e também pelo escuro.

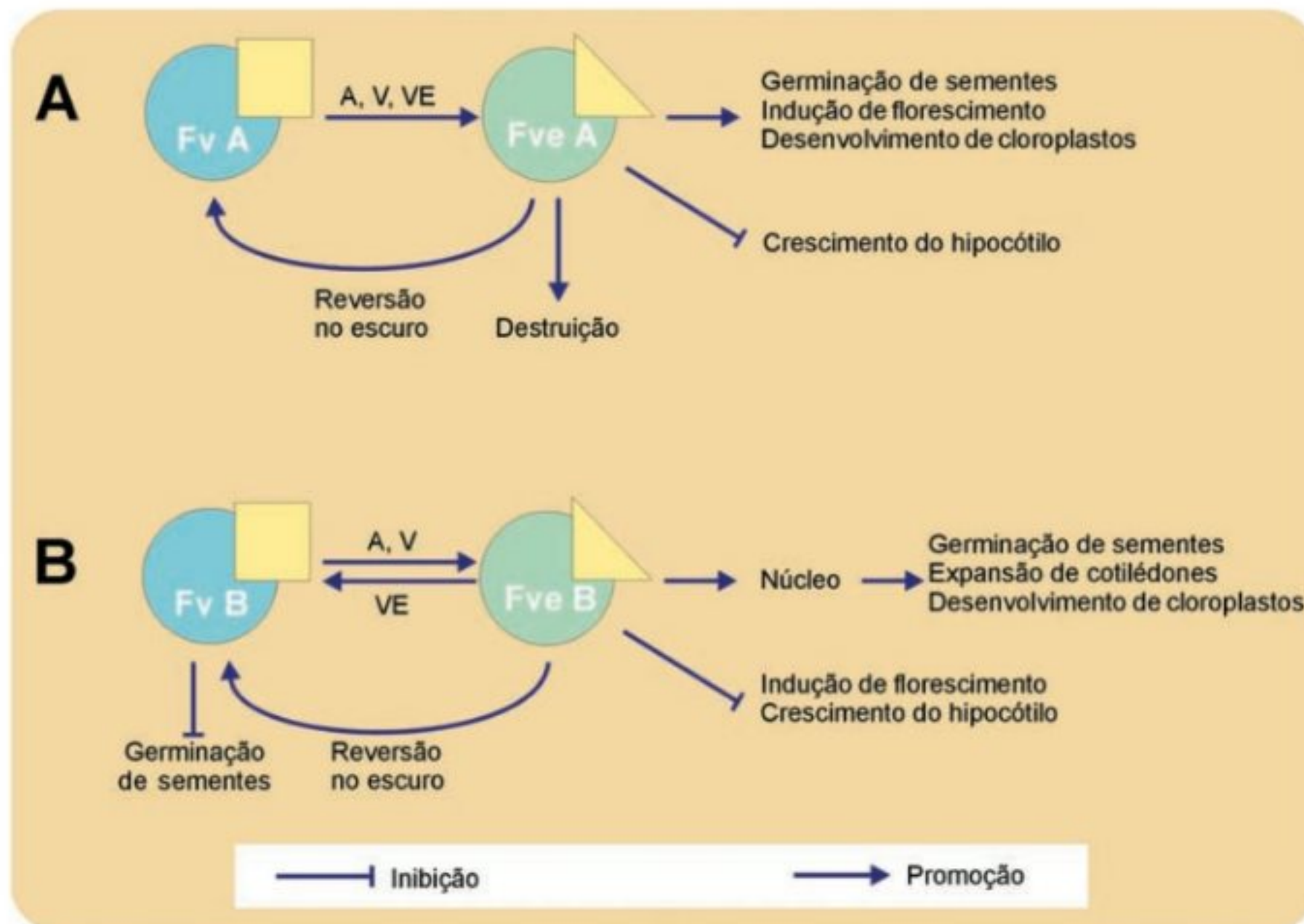


FIGURA 15.5

Resumo esquemático da fotoconversão Fv-Fve e dos processos de desenvolvimento regulados por phyA e phyB. As setas indicam promoção e a terminação em T indica inibição dos eventos fisiológicos mencionados. (Adaptado de Chory, 1997.)

Propriedades físico-químicas dos fitocromos

A MOLÉCULA DOS FITOCROMOS

Fitocromos são proteínas pigmentadas solúveis de aproximadamente 125 kD (kilodáltons). A forma Fv do fitocromo é azul, enquanto a forma Fve é esverdeada. As moléculas de fitocromo são dímeros protéicos (Fig. 15.6). Cada subunidade contém um *cromóforo* que se liga covalentemente à proteína phy (*apoproteína*). O cromóforo é um tetrapirrol de cadeia aberta denominado fitocromobilina (Fig. 15.7). Juntos, a apoproteína e seu cromóforo formam a *holoproteína* (Chory, 1997). As apoproteínas phy (A-E) são codificadas por genes nucleares, enquanto o cromóforo, apesar de também ser codificado por genes nucleares, é sintetizado em uma via metabólica dos cloroplastos (Fig. 15.8).

As propriedades únicas das moléculas de fitocromo resultam da interação complexa entre o cromóforo e a apoproteína. A fotoconversão entre as formas Fv e Fve está associada a mudanças conformacionais na estrutura do cromóforo (Chory, 1997). Após absorção de luz, o cromóforo Fv passa por isomerização *cis-trans* na ligação dupla entre os carbonos 15 e 16 e uma rotação da ligação simples C14-C15. As mudanças conformacionais do cromóforo, promovidas pela luz, alteram a conformação da proteína phy e, ao mesmo tempo, modificam as propriedades espectrofotométricas da molécula do fitocromo. Essas mudanças conformacionais na proteína phy alteram a sua atividade biológica (Figs. 15.4 e 15.5).

PROPRIEDADES ESPECTROFOTOMÉTRICAS

No escuro, os tecidos vegetais sintetizam fitocromos na forma Fv. A forma Fv tem pico máximo de absorção em 667 nm, enquanto a forma Fve absorve ao máximo em 730 nm (Fig. 15.9). Seja *in vivo*, seja *in vitro*, a maior parte das moléculas do fitocromo é

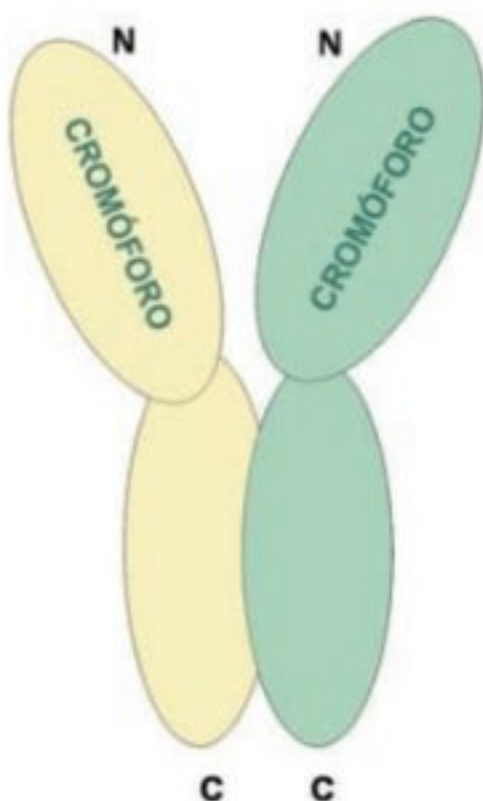


FIGURA 15.6

Esquema da estrutura do fitocromo formado por um dímero protéico. Cada subunidade protéica liga-se a um cromóforo.

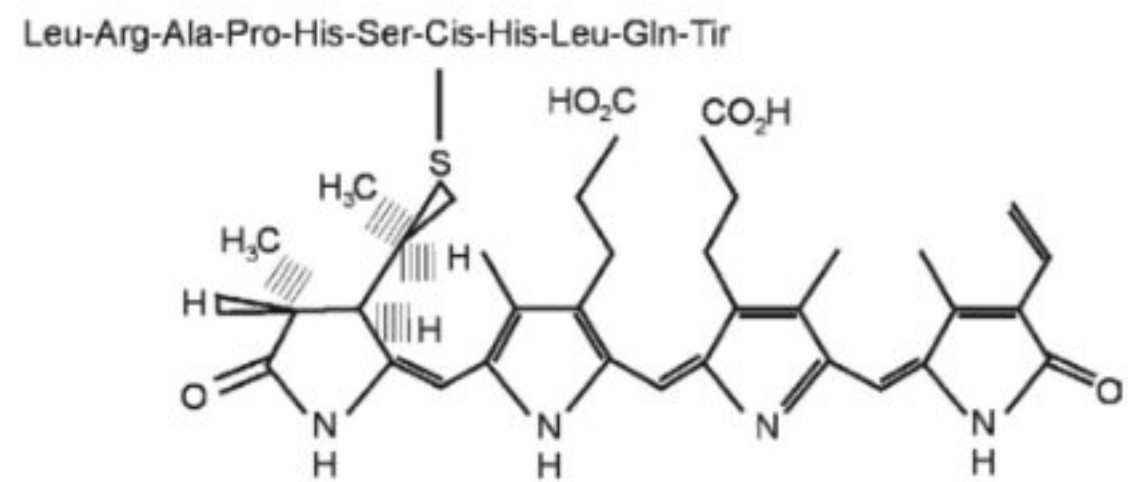


FIGURA 15.7

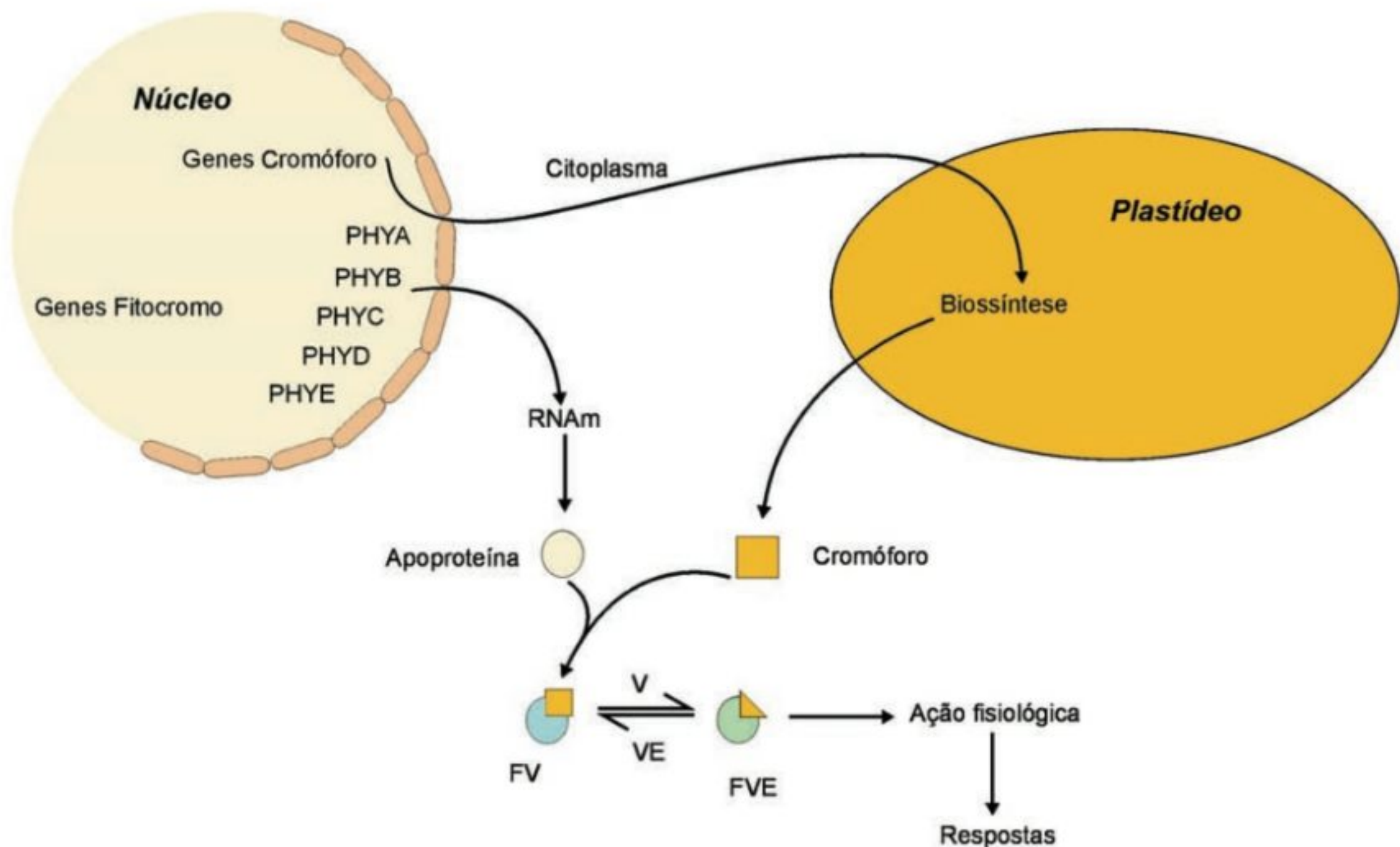
O cromóforo do fitocromo é uma cadeia tetrapirrólica aberta.

convertida na forma Fve ao serem irradiadas com luz vermelha (660 nm). Porém, como as moléculas de Fve também são capazes de absorver, com menor eficiência, luz vermelha, parte delas retorna para a forma Fv (Figs. 15.3 e 15.9). Por esse motivo, em presença de luz vermelha saturante, a forma Fve compreende, no máximo, 85% do total das moléculas de fitocromo. Por outro lado, após serem irradiadas com vermelho-extremo saturante (730 nm), moléculas de fitocromo na forma Fve são convertidas à forma Fv. O foto-equilíbrio estabelecido, entretanto, é de 97% de moléculas na forma Fv e 3% na forma Fve. Isso porque Fv também pode absorver comprimentos de onda VE e ser convertida na forma Fve (Labouriau, 1983). Note que Fv absorve pouco a radiação VE (Fig. 15.9). Em síntese, as reações reversíveis pelos comprimentos de onda V/VE geram dois grupos de fitocromos distintos em suas propriedades espectrofotométricas e fisiológicas: um grupo é sintetizado no escuro na forma Fv, enquanto o outro grupo (Fve) depende das características da radiação ambiental.

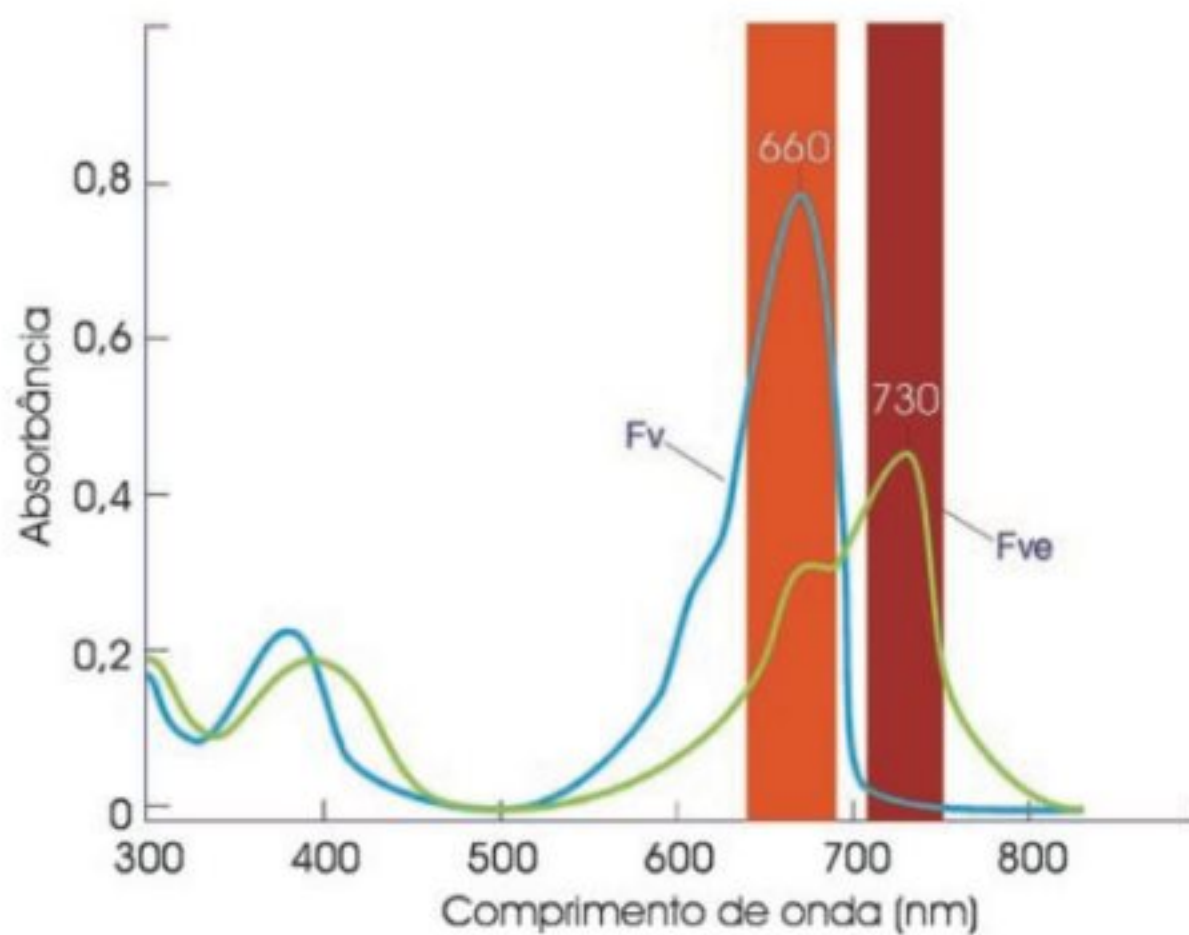
Localização e expressão dos fitocromos na planta

O fitocromo pode ser detectado *in vivo* por espectrofotometria, imunocitoquímica e histoquímica em plantas transgênicas. O fitocromo é mais concentrado nas regiões de crescimento, responsáveis pelas mudanças incessantes no desenvolvimento das plantas. Meristemas e regiões subapicais (zona de alongamento) de caules e raízes apresentam, portanto, as maiores concentrações de fitocromo.

A clonagem dos genes PHY tem auxiliado estudos mais precisos sobre o padrão de expressão dos genes individuais em diferentes tecidos. Somers e Quail (1995) estudaram o padrão de expressão temporal e espacial dos genes PHYA e PHYB em plantas transgênicas de *Arabidopsis*, desde a semente até a planta em fase reprodutiva. As plantas foram transformadas com genes modificados que continham os promotores de PHYA e de PHYB associados ao gene repórter GUS. Esses genes artificiais somente se expressam quando os promotores de PHYA e PHYB são ativados por sinais ambientais e endógenos que controlam a expressão de PHYA e PHYB. A proteína codificada pelo gene GUS, a enzima β -glucuronidase, após a adição de um substrato específico, gera um precipitado com coloração azul *in situ*. A presença, distribuição e intensidade da coloração azul nos diferentes tecidos permitem visualizar o padrão

**FIGURA 15.8**

As subunidades protéicas dos fitocromos (apoproteína) são codificadas por genes nucleares e sintetizadas no citoplasma. O cromóforo é sintetizado no interior dos cloroplastos e transportado para o citoplasma. A ligação entre as apoproteínas e o cromóforo forma moléculas ativas de fitocromos (holoproteínas).

**FIGURA 15.9**

Espectros de absorção do fitocromo phyA nas formas Fv e Fve. A forma Fv tem pico em luz V (660 nm) e a forma Fve em luz VE (730 nm). A forma Fv também absorve um pouco na faixa do VE e Fve absorve significativamente na faixa do V. Note que, além da faixa do vermelho, as formas de fitocromo também possuem picos de absorção na faixa do azul (320–400 nm) e ultravioleta (280 nm).

de expressão dos genes em estudo. Verificou-se que PHYA e PHYB se expressam em níveis detectáveis na maioria dos tecidos ao longo de toda a vida da planta, mas que a sua regulação é controlada, no nível transcricional, pelo estágio do desenvolvimento e pela luz. Assim, os autores concluíram que as fotorrespostas diferenciadas atribuídas a cada um dos fitocromos pode depender: (1) da alteração da quantidade relativa de ambos os fitocromos; (2) das propriedades bioquímicas intrínsecas diferenciadas; e (3) de vias de transdução de sinais independentes.

Respostas ao fitocromo também dependem da quantidade de luz

Os fitocromos podem agir de três diferentes modos, de acordo com a qualidade, intensidade e duração da luz requerida para induzir respostas na planta: *respostas de fluência** muito baixa

*N.A.: Entende-se por **fluência** a quantidade de fótons (μmol) incidindo em determinada área (m^{-2}). Se levarmos em conta o tempo (s^{-1}) de incidência dos fótons, teremos a taxa de fluência de fótons ou irradiância, cuja unidade é $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Quanto maior a irradiância, mais “brilhante” é uma fonte luminosa.

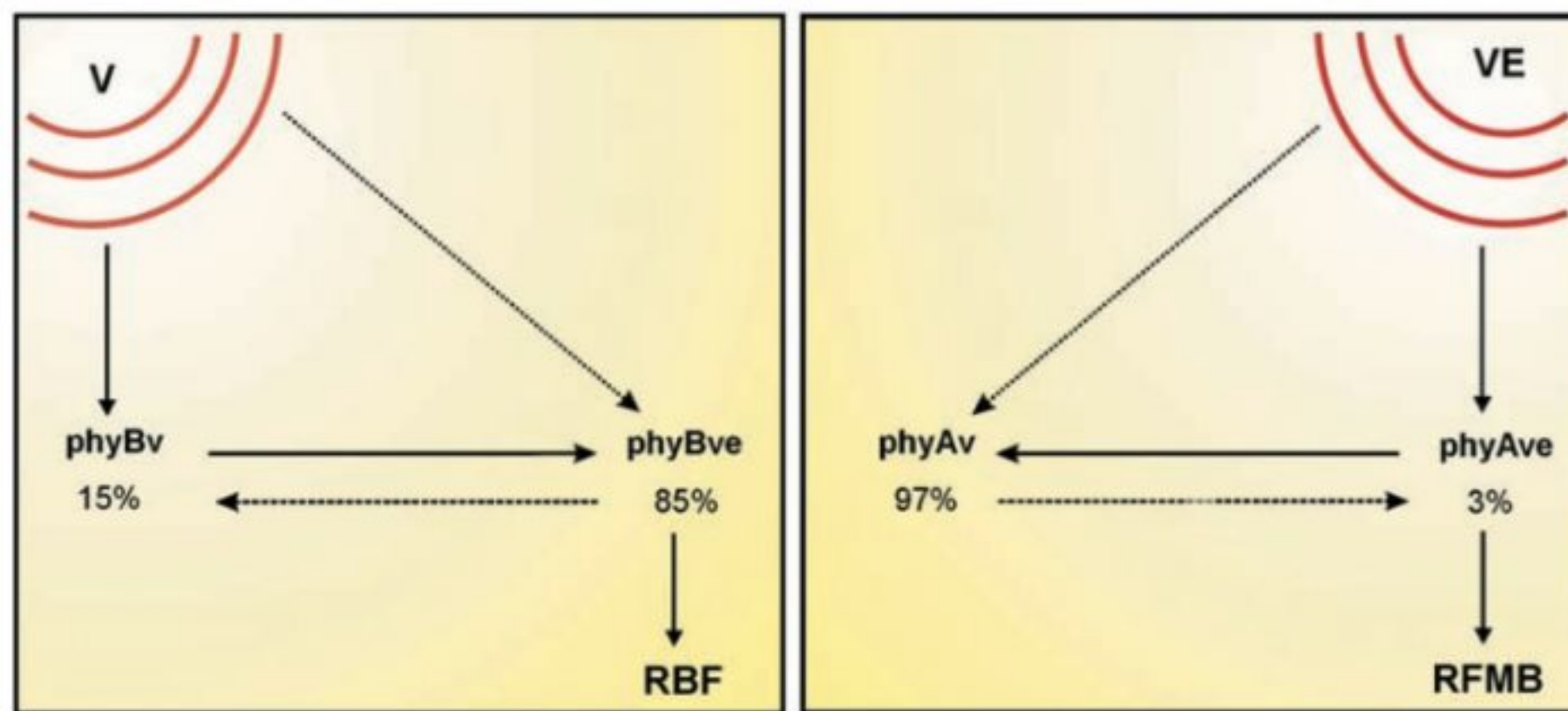


FIGURA 15.10

Interação entre fluência e comprimento de onda da fonte luminosa nas respostas ao fitocromo. Em plantas crescidas sob luz, a irradiação saturante com luz V, a forma Fv do fitocromo phy B (phyBv) irá absorver luz V e converter-se na forma ativa (phyBve). Contudo, a forma phyBve (Fve) também absorve um pouco de luz V (ver Fig. 15.9), convertendo-se novamente em phyBv. No equilíbrio fotoestacionário, sob luz V, 85% de phyB estarão na forma ativa, o que é suficiente para induzir respostas de baixa fluência (RBF). Do mesmo modo, em plântulas crescidas no escuro, após saturação com VE, phyA estará com 97% de suas moléculas na forma inativa Fv (phyAv) e somente 3% na forma ativa Fve (phyAve). Contudo, essa quantidade de phyA ativo é mais do que suficiente para induzir resposta de fluência muito baixa (RFMB).

(RFMB), respostas de baixa fluência (RBF) e respostas de irradiância alta (RIA). Ambas, RFMB e RIA, são mediadas por phyA. Entretanto, RBF é mediada por phyB e, em muitos casos, por outros fitocromos diferentes de phyA.

A RFMB inicia em $0,1 \text{ nmol}\cdot\text{m}^{-2}$ e satura em $50 \text{ nmol}\cdot\text{m}^{-2}$. Essa pequena quantidade de luz V converte menos que 0,02% do fitocromo total (phyA) em Fve. Como visto anteriormente, devido ao fato de a forma inativa do fitocromo (Fv) também absorver um pouco de VE e se tornar ativa, mesmo sob saturação de VE, haverá 3% de Fve. Essa pequena quantidade de fitocromo ativo é bem maior do que os 0,02% necessários para induzir RFMB. É justamente por isso que, ao contrário de RBF, a RFMB não apresenta a clássica reversão por VE (Fig. 15.10).

A RBF é a resposta clássica de fitocromo induzida por V e revertida por VE, como ocorre na germinação de sementes de alface, por exemplo. Esse tipo de resposta requer um mínimo de fluência de $1 \mu\text{mol m}^{-2}$ e satura a $1.000 \mu\text{mol m}^{-2}$. Desse modo, sob exposição contínua ao V ou pulsos de V, uma grande proporção de moléculas de phyB convertem-se na forma ativa (Figs. 15.5 e 15.10).

Por fim, RIA requer exposição prolongada ou exposição contínua à luz de irradiância alta, ou seja, a resposta é proporcional à irradiância ou taxa de fluência de fótons. É justamente por isso que ela é denominada RIA, e não resposta de fluência alta (RFA). Nesse caso, RIA não responde à lei da reciprocidade,* ou seja, exposição contínua a luz fraca ou exposição rápida

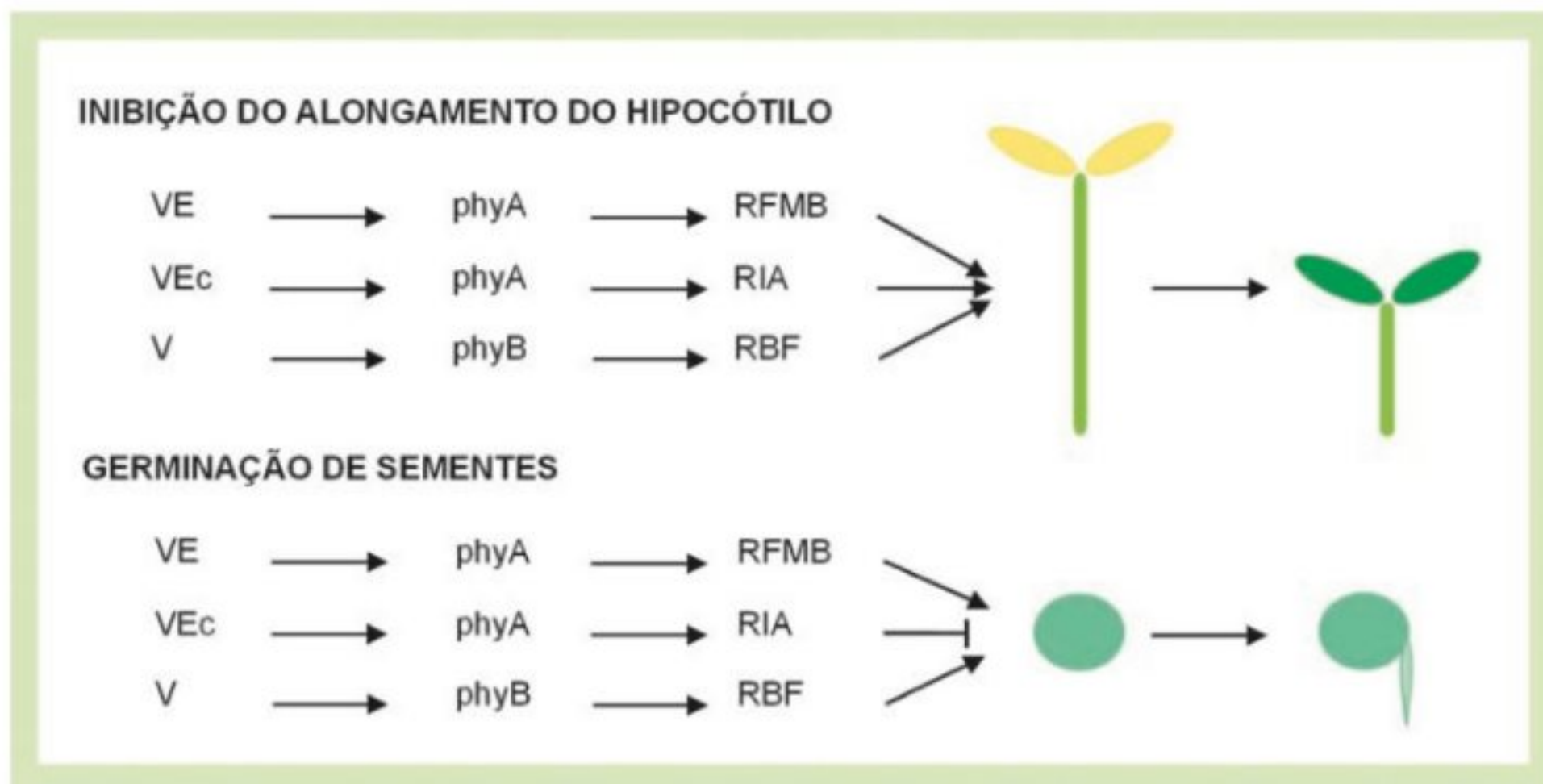
a luz muito brilhante não induzem RIA. Além de RIA precisar de fluência muito alta para saturar, ela não é fotorreversível (V/VE). Esse tipo de resposta é mediada por phyA e só ocorre sob VE contínuo, e não sob pulsos de VE ou mesmo V. Um típico exemplo de RIA é a síntese de antocianinas em algumas espécies de dicotiledôneas.

Os três tipos de resposta (RBF, RFMB e RIA) podem estar envolvidos em um mesmo evento fisiológico (Fig. 15.11). Na inibição do crescimento do hipocótilo, em plantas previamente crescidas no escuro, o phyA que se acumula nessas condições pode inibir o estiolamento tanto por RFMB sob pulsos de VE, quanto por RIA, sob VE contínuo. Por outro lado, em plantas previamente crescidas no claro e mantidas sob V, a inibição do crescimento do hipocótilo é induzida por phyB atuando em RBF. No caso da germinação de sementes, a luz VE contínua em RIA ou pulsos de VE em RBF irão inibir esse processo. No primeiro caso, a inibição da germinação é mediada por phyA e, no segundo, por phyB. Contudo, sementes podem ser induzidas a germinar sob VE, desde que este atue em fluência muito baixa (RFMB), sendo essa resposta mediada por phyA. Exposição com luz V normalmente induz germinação de sementes, sendo essa a clássica RBF mediada por phyB.

Mutações fotomorfogênicas

Mutantes fotomorfogênicos são ferramentas muito importantes no estudo de fotorreceptores. O efeito da mutação é a expressão defeituosa ou alterada de um gene. Mutações em genes específicos da biossíntese ou da via de transdução de sinal do fitocromo permitem analisar as diferentes funções fisiológicas desses fotorreceptores. Em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*), mutantes com

*N.A.: Lei da reciprocidade: a resposta fotobiológica depende do produto $f \times t$ (fluência de fótons vezes tempo de exposição). Assim, se a exposição a determinada radiação é prolongada, a fluência pode ser baixa. Porém, se o tempo de exposição é curto, a fluência deve ser proporcionalmente mais elevada. RFMB e RBF respondem a essa lei.

**FIGURA 15.11**

Modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do hipocótilo e regulação da germinação de sementes. RFMB é mediada por phyA sob VE. RBF é mediada por phyB sob luz V. RIA é mediada por phyA sob exposição ao vermelho-extremo contínuo (VEc). Observe que a germinação de sementes é inibida por VEc em RIA ou por pulsos de VE em RBF (não mostrado aqui). (Adaptado de Casal & Sanchez, 1998.)

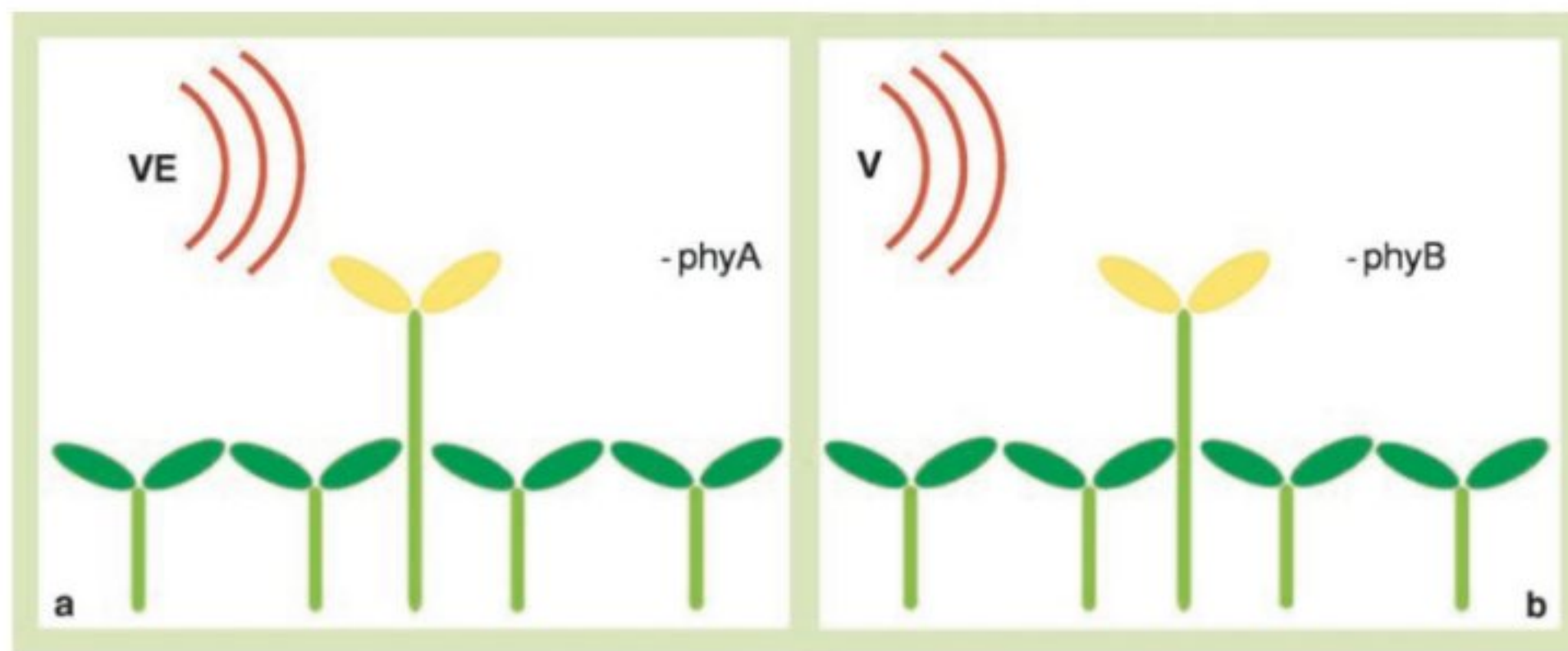
alteração na síntese ou expressão do fitocromo já foram isolados. Os mutantes *yellow green-2* (*yg-2*) e *aurea* (*au*) de tomateiro não respondem à luz branca do mesmo modo que as plantas selvagens (Kendrick & Georghiou, 1991) (Fig. 15.12). O hipocótilo desses mutantes apresenta-se alongado e com pouco acúmulo de antocianinas. O aspecto clorótico (amarelecido) das plantas dá a impressão de que estejam crescendo na ausência da luz. Essas características da planta, mesmo sob luz branca, indicam deficiência de fitocromo. Nesses dois mutantes em questão, todos os tipos de fitocromo estão em baixas quantidades, indicando que a deficiência é na síntese do cromóforo. Como visto anteriormente, embora existam diferentes tipos de apoproteínas, o cromóforo é o mesmo para todas elas. Desse modo, a deficiência na síntese do cromóforo acarreta limitação quantitativa em todos os tipos de fitocromos. A deficiência também pode ser observada durante a germinação.

Outras mutações envolvendo deficiência na percepção da luz podem ser ainda observadas em *Lycopersicon esculentum*. O mutante *fri* (*far red insensitive*) aparece em plantas insensíveis ao comprimento de onda do vermelho-extremo. Os mutantes *fri* apresentam alterações na apoproteína de phyA. O acúmulo do fitocromo tipo A (phyA) em plantas selvagens que crescem sob VE está associado à inibição do alongamento do hipocótilo durante o estiolamento. A deficiência no acúmulo de phyA sob VE, após o período de germinação no escuro, causa um estiolamento proeminente nesses mutantes (Fig. 15.13a). Porém, quando crescido sob luz branca, o fenótipo de *fri* é quase indistinguível do tipo selvagem (van Tuinen *et al.*, 1995a).

Plantas temporariamente deficientes na percepção do comprimento de onda do vermelho, mutantes *tri* (*temporary red insensitive*), também foram encontradas em tomateiro. O fitocromo tipo B (phyB) é o pigmento envolvido na percepção de luz V,

**FIGURA 15.12**

Fenótipo do mutante *aurea* (*au*) (do latim = amarelo) de tomateiro. As plantas da esquerda são selvagens e as da direita são do mutante *au*. Notar o aspecto estiolado das plantas e o baixo acúmulo de clorofila, prevalecendo os carotenóides (amarelo) que conferem a coloração dourada das plantas.

**FIGURA 15.13**

Mutantes deficientes no acúmulo de phyA apresentam um estiolamento proeminente após a transferência do escuro para o VE (a). Sob V, mutantes deficientes no acúmulo de phyB estiolam por um período de aproximadamente dois dias após a transferência do escuro para o V (b).

causando inibição do alongamento do hipocótilo. Mutantes de tomateiro que estiolam sob esse comprimento de onda são deficientes em phyB (Fig. 15.13b). Um atraso temporário de aproximadamente dois dias na inibição do alongamento do hipocótilo pode ser observado após a transferência de mutantes *tri* do escuro para a radiação com V (van Tuinen *et al.*, 1995b).

Os mutantes *fri* e *tri* apresentam alterações na síntese das subunidades protéicas do fitocromo, ou seja, na codificação das apoproteínas PHYA e PHYB1, respectivamente. Além da participação conjunta de phyA e phyB na inibição do alongamento do hipocótilo, outras respostas fotomorfogênicas parecem envolver ambos os fitocromos durante o ciclo de vida da planta.

Mecanismos de ação dos fitocromos

A presença de Fve nas células desencadeia vias de transdução de sinais específicas para cada tipo celular, podendo promover modificações profundas no metabolismo e nas rotas de desenvolvimento celular. A compreensão desses mecanismos de ação tem avançado rapidamente com a utilização de técnicas moleculares e bioquímicas, assim como com o estudo de mutantes fotomorfogênicos e plantas transgênicas. As respostas à luz podem ser classificadas em duas categorias:

1. Respostas rápidas ou de curto prazo. As mudanças ocasionadas pela luz são observadas alguns segundos ou minutos após a percepção de determinado estímulo luminoso. Tais respostas são dependentes de mudanças na permeabilidade das membranas celulares, envolvendo mudanças em fluxos iônicos.
2. Respostas de longo prazo observadas horas ou dias após a percepção de determinado estímulo luminoso. Essas respostas, de caráter morfogênico, são dependentes de mudanças no padrão de expressão gênica.

MODIFICAÇÃO DA PERMEABILIDADE DAS MEMBRANAS

Muitas das respostas rápidas ao estímulo luminoso parecem estar relacionadas a mudanças na atividade das membranas biológicas que resultam em variações nos potenciais bioelétricos ou no fluxo de íons.

Um dos primeiros indícios de que o fitocromo influenciava propriedades elétricas dos tecidos foi obtido por T. Tanada, em 1968, ao estudar a carga superficial de segmentos de pontas de raízes. Ele observou que as pontas de raízes de plantas de cevada, crescidas no escuro, flutuavam livremente num bécher de vidro com paredes carregadas negativamente. Entretanto, 30 segundos após uma breve irradiação com luz vermelha, as pontas de raízes aderiam à superfície negativamente carregada das paredes de vidro. Um tratamento subsequente com radiação vermelho-extrema liberava os ápices radiculares das paredes do bécher. Posteriormente, vários laboratórios divulgaram diversos exemplos de fotomodulação de potenciais transmembrana. A correlação entre o fitocromo e o movimento de íons foi demonstrada no movimento noturno de fechamento de folhas e folíolos (*nicnastia*; para mais informações, ver Cap. 16, Movimento nas Plantas). Plantas que apresentam esse comportamento têm uma região bulbosa, chamada pulvino, na base das folhas e de cada um dos folíolos. O pulvino modifica o movimento das folhas quando a sua forma é alterada por mudanças de volume de suas células superiores e inferiores. As mudanças de volume e forma dessas células motoras são osmoticamente reguladas através da rápida redistribuição de íons, principalmente K^+ , Cl^- e malato. Vários estudos têm demonstrado que o fitocromo controla o fluxo de K^+ em certos órgãos e que esse controle parece ser indireto. O íon K^+ move-se através de um canal cuja porta de controle é aberta pela saída de H^+ promovido pelo fitocromo (Fve). Desse modo, o papel do fitocromo seria o de ativar bombas de prótons da plasmalema (H^+ -ATPase), ou seja, aumentar a extrusão de

H⁺. Essa despolarização instantânea da membrana promoveria a abertura de canais de K⁺ (Hopkins, 1995).

Existem estudos mostrando que o Ca²⁺ também está envolvido como mensageiro secundário em movimentos nicnásticos. Rápidas mudanças nas concentrações citoplasmáticas de Ca²⁺, após irradiação, sugerem a participação desse íon em várias rotas de transdução de sinais.

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

Atualmente, apesar da abundância de dados sobre a distribuição intracelular dos fitocromos e as características das vias de sinalização controladas por esses fotorreceptores, sua função molecular primária ainda permanece obscura. As atividades dos fitocromos como holoproteínas do tipo receptores cinases e reguladores da transcrição de genes são parcialmente aceitas. Nesse sentido, já se evidenciou que, em células iluminadas com pulsos de luz V ou exposição contínua a VE, os fitocromo phyB ou phyA, respectivamente, migram do citossol para o núcleo. Até o momento foram identificadas duas proteínas do núcleo que interagem com a forma Fve de phyB. Acredita-se que as proteínas nucleares que se associam com phyB ativo sejam fatores de transcrição. Tal hipótese sugere que fitocromos ativados, transportados para o núcleo, exerçam um controle sobre a transcrição de genes controlados pela luz.

Já foram identificadas algumas proteínas que são fosforiladas pela atividade cinase do fitocromo. Uma delas é o próprio criptocromo. A constatação de que phyA é capaz de ativar moléculas de criptocromo por fosforilação explica, em parte, o efeito conjunto de phyA e criptocromo na resposta à luz azul. Por fim, existem dois genes cuja expressão é regulada por fitocromo: o que codifica a subunidade pequena da rubisco (RBCS) e o que codifica a proteína que se liga à clorofila a/b do complexo antena (LHCB ou CAB). Essa última constatação reforça a idéia original de que a fotomorfogênese e a fotossíntese estariam intimamente associadas. Muitos estudos ainda precisam ser realizados para o entendimento do modo de ação do fitocromo, e uma abordagem promissora para tal pode ser a análise do fenótipo de vários mutantes envolvidos nesses processos.

Pesquisas com plantas mutantes que apresentam fenótipo *desestiolado* no escuro também têm trazido contribuições importantes. As plantas mutantes desse tipo, crescidas no escuro, apresentam o fenótipo semelhante ao das plantas selvagens expostas à luz. Os mutantes de *Arabidopsis thaliana*, conhecidos como COP1 (fotomorfogênico constitutivo 1) e DET1 (desestiolado 1) são deficientes numa proteína reguladora que, provavelmente, reprime os genes responsáveis pelas respostas fotomorfogênicas quando as plantas crescem no escuro. Assim, em plantas selvagens iluminadas, o fitocromo (Fve) provavelmente ativa mecanismos que removem essa proteína repressora das regiões que regulam a expressão dos genes envolvidos nas respostas fotomorfogênicas. No escuro, esses genes ficam reprimidos (Quail, 1994).

A LUZ NOS AMBIENTES NATURAIS

Em condições naturais, a luz sofre variações enormes em intensidade (taxa de fluência de fótons) e em qualidade (composição espectral) ao longo do dia e dentro das comunidades vegetais. Ao longo do ano, a sua duração diária (fotoperíodo) pode ser muito variável, dependendo da latitude (Smith, 1982; Smith & Whitelam, 1990).

Quando o sol se posiciona acima de 10° em relação ao horizonte, o espectro global da radiação é relativamente constante, recebendo a denominação de **luz do dia**. Mas, quando o sol declina abaixo de 10° (crepúsculo), o aumento do caminho da luz através da atmosfera terrestre acentua a atenuação da radiação solar direta, aumentando a absorção e o espalhamento. Além disso, a refração dos raios solares na atmosfera aumenta, preferencialmente, os comprimentos de onda mais longos. No crepúsculo, o espectro torna-se enriquecido com luz azul (decorrente da intensificação do espalhamento da luz) e com vermelho-extremo devido à refração (Smith, 1982).

Ao atravessar o dossel de uma comunidade vegetal, a luz solar, além de ser atenuada, sofre profundas mudanças em sua composição espectral. Devido à presença de clorofilas e carotenóides, grande parte dos fótons de comprimento de onda na faixa do vermelho e do azul são absorvidos pelas folhas. Já o vermelho-extremo atravessa com facilidade os tecidos foliares. As folhas, ao realizarem uma filtragem seletiva da radiação solar, afetam a proporção entre fótons de luz nas bandas do vermelho e vermelho-extremo. À medida que o auto-sombreamento numa comunidade vegetal aumenta, a radiação ambiental vai se tornando empobrecida em fótons de vermelho e azul e enriquecida com fótons de luz vermelho-extrema. De especial interesse é a **razão** entre a taxa fluência de fótons de luz vermelha (V; 660 ± 10) e a taxa de fluência de fótons de luz vermelho-extrema (VE; 730 ± 10) presentes no ambiente onde crescem as plantas. A razão V/VE é representada pela letra grega zeta (ζ). A Tabela 15.2 mostra os valores que ζ adquire em diferentes situações ambientais (Smith, 1982).

A luz solar tem maior proporção de fótons V do que de fótons VE, ao passo que, no interior de comunidades de plantas cultivadas e florestas, a radiação ambiental é enriquecida com fótons de luz VE.

IMPORTÂNCIA ECOFISIOLÓGICA DOS FITOCROMOS

Os valores de zeta da radiação ambiental são percebidos pelo fitocromo, promovendo alterações na proporção entre as formas Fve e Fv nas células das plantas. A razão entre a concentração de Fve e o conteúdo total do fitocromo (Fve + Fv) reflete, portanto, a qualidade da radiação que incide sobre as plantas. Essa razão é simbolizada pela letra grega φ -fi (Smith & Whitelam, 1990).

$$\phi = [Fve] / [Fv + Fve] \quad \text{ou} \quad \phi = [Fve] / [Ftotal]$$

Os valores de φ nas células controlam inúmeros processos moleculares e celulares que resultam em mudanças no cresci-

TABELA 15.1
Valores de ζ (zeta) em ambientes abertos, sob dosséis de vegetação e taxa de fluência de fótons total – 400–800 nm
 (Hopkins, 1995; Smith, 1982)

Situação ambiental	Valores de ζ	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Luz do dia	1,15–1,25	1.900,0
Aurora/crepúsculo	0,65–1,15	26,5
Sob 5 mm de solo	0,88	8,6
Sob dossel de cultura de trigo	0,2–0,5	–
Sob dossel de cultura de beterraba	0,11–0,45	–
Sob dossel de floresta tropical	0,22–0,30	–
Sob dossel de floresta de carvalho	0,5–0,75	–

mento e desenvolvimento das plantas. Plantas iluminadas com luz solar, rica em fótons de V, apresentam um elevado valor da razão ϕ , enquanto plantas sombreadas apresentam valores de ϕ menores. Quanto maior for o número de folhas atravessadas pela luz (nível de sombramento), menor a razão zeta da radiação e, conseqüentemente, menores serão os valores de ϕ .

O fitocromo desempenha um papel importante na fotomodulação de uma grande variedade de respostas de desenvolvimento. Estas, por sua vez, têm enorme repercussão adaptativa e ecológica para as plantas. As funções ecofisiológicas que o fitocromo desempenha são: o controle da germinação de sementes fotoblásticas; o desestiolamento de plântulas recém-germinadas; a modulação do crescimento e forma de plantas iluminadas; a detecção da aurora e do crepúsculo, a sincronização do relógio biológico e a percepção fotoperiódica.

Controle da germinação de sementes fotoblásticas

Em geral, sementes pequenas e com poucas reservas, bem como sementes de espécies arbóreas pioneiras pertencentes aos estratos superiores de uma floresta, apresentam *fotodormência*. Tais sementes tendem a ser fotoblásticas positivas. No interior de florestas, permanecem fotodormentes na superfície do solo, enquanto a comunidade vegetal estiver intacta (baixa razão ζ). Entretanto, a fotodormência é quebrada quando há a abertura de uma clareira ou quando as sementes são transportadas para fora da floresta. Sementes iluminadas com luz solar direta (elevada razão ζ) são estimuladas a germinar devido ao aumento da forma Fve do fitocromo (elevação da razão ϕ). A dormência das sementes fotoblásticas positivas sob o dossel proporciona a formação de um banco de sementes no interior da floresta, permitindo a regeneração natural da mata quando ocorrem aberturas de clareiras. Nesse caso, é bem ilustrativa a germinação de sementes da embaúba (*Cecropia*) em clareiras abertas no interior de nossas matas. O mecanismo da fotodormência permite, ainda, a expansão dos limites da comunidade vegetal através da dispersão e germinação das sementes em locais descampados nas bordas das matas.

Plantas invasoras (daninhas) também costumam apresentar sementes fotoblásticas positivas. Tais sementes podem permanecer enterradas no solo por longos períodos até que operações agrícolas revolvam o solo expondo-as à luz solar por um breve período. Esse estímulo luminoso é percebido pelo fitocromo, podendo a germinação ser uma resposta de baixa fluência (RBF) ou de fluência muito baixa (RFMB). Isso explica por que, em áreas recém-capinadas, é comum o aparecimento de populações de plantas daninhas cuja presença não era antes detectada. No plantio direto, o solo permanece recoberto com palha, proporcionando uma redução significativa das populações de plantas invasoras. Em parte, tal sucesso no controle quantitativo dessas espécies indesejáveis deve-se à redução da frequência de germinação de suas sementes devido à manutenção das sementes em condição de fotodormência.

Desestiolamento de plântulas recém-germinadas

A luz controla o desenvolvimento durante a emergência das plântulas a partir do solo. Todo o complexo processo de transição entre condição heterotrófica (plântula estiolada) e condição autotrófica é controlado pela luz (Fig. 15.2).

Modulação do crescimento e forma de plantas iluminadas

Plantas crescidas sob luz solar são capazes de perceber a proximidade de plantas vizinhas, levando a respostas de evitação de sombra (aumento do crescimento longitudinal do caule). Ao mesmo tempo, as plantas que crescem sombreadas, em comunidades vegetais, percebem os diferentes níveis de sombramento em que se encontram, também conduzindo a respostas de desenvolvimento que possibilitam atingir com rapidez a radiação solar direta.

As respostas dos vegetais à quantidade de luz do ambiente variam muito entre as espécies. A maioria das plantas adaptadas à sombra (umbrófitas) não responde à diminuição da razão ϕ , promovida pelo redução dos valores da razão ζ , ou seja, pelo enri-

quecimento de luz VE (Fig. 15.14). Por outro lado, as plantas adaptadas ao sol, intolerantes à limitação de luz, possuem mecanismos eficientes para evitar a sombra. Estas, quando submetidas à sombra, alocam suas reservas para o aumento do alongamento dos entrenós, acelerando o crescimento longitudinal do caule. O preço pago por esse gasto extra de reservas costuma ser a diminuição da área foliar, do sistema radicular e a inibição do desenvolvimento das gemas laterais (menor ramificação lateral).

As diferentes respostas desencadeadas por phyA e phyB às luzes VE e V contínuas, respectivamente, fornecem à planta a capacidade de inibir o estiolamento. A luz V contínua é absorvida por phy B, estimulando o desestiolamento devido à manutenção de elevados níveis da forma Fve de phyB (FveB). A luz VE contínua, absorvida por phyB, atua de modo oposto, mantendo o estiolamento, devido à redução dos níveis de fitocromo FveB. Entretanto, a fotomorfogênese em ambientes sombreados depende das quantidades relativas de phyA e phyB, bem como das proporções entre V e VE do ambiente (Fig. 15.15). A luz VE contínua estimula o desestiolamento ao ser absorvida por phyA, enquanto a luz V contínua, absorvida pelo mesmo phyA, atua de modo oposto, inibindo o desestiolamento. Observem que phyA e phyB têm atuações antagônicas, no controle do desestiolamento, ao detectarem VE e V contínuas, respectivamente. Na abertura de uma clareira numa vegetação, o sol penetra diretamente com luz rica em V. Nesse caso, a inibição do estiolamento é mediada por phyB. O efeito de phyA na inibição do estiolamento ocorre se o comprimento de onda predominante for VE contínuo, o que

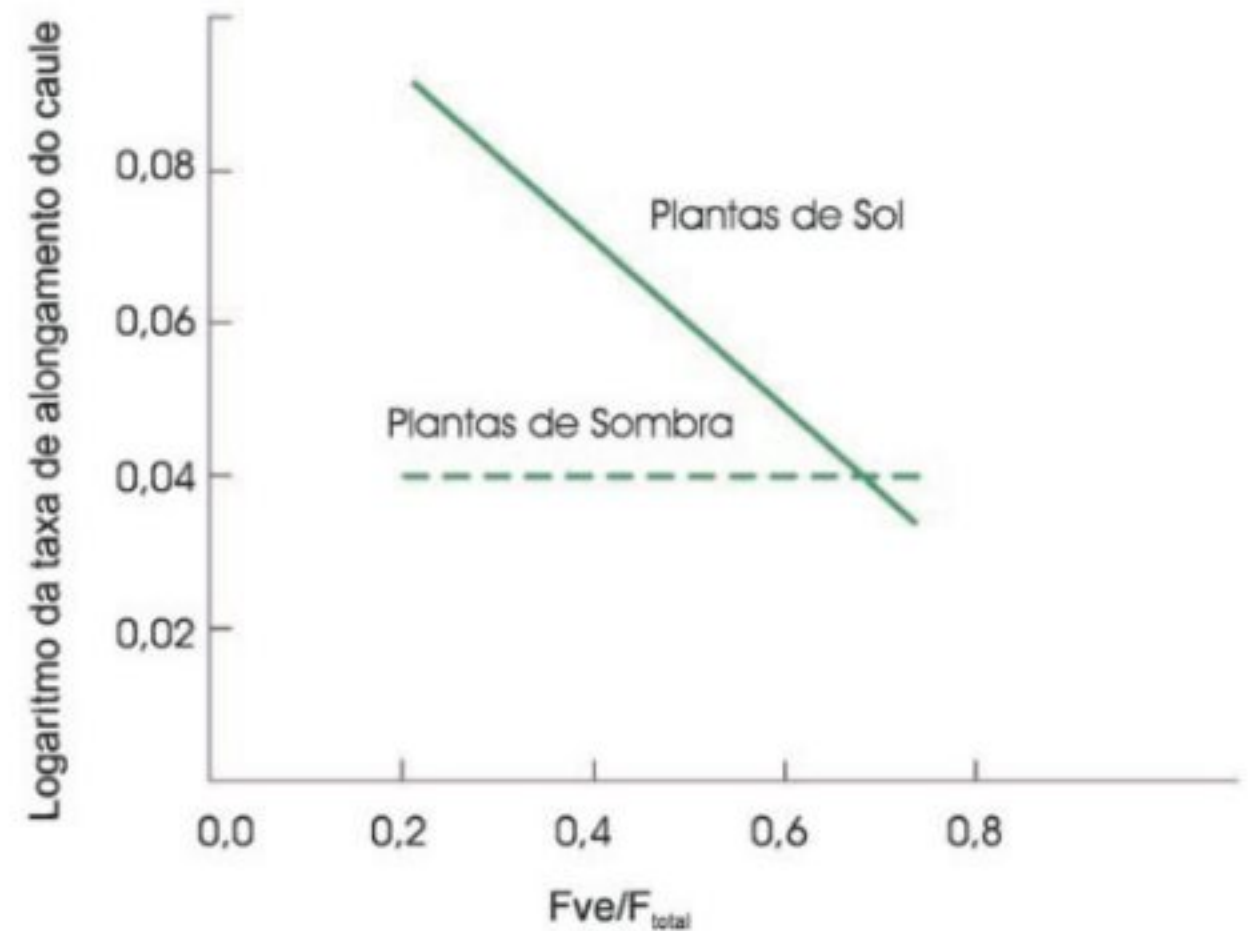


FIGURA 15.14

Plantas adaptadas ao sol e à sombra respondem de modo diferente às mudanças na qualidade da luz. À medida que aumenta a proporção relativa da radiação V (elevação da razão ζ), há um maior acúmulo das formas ativas dos fitocromo (Fve), aumentando a razão Φ ($Fve/Fv + Fve$). A elevação progressiva da razão inibe proporcionalmente o nível de estiolamento em plantas adaptadas ao sol. Nas plantas de sombra, embora a razão Φ dos fitocromos seja alterada do mesmo modo, estas não respondem com um correspondente estiolamento ou desestiolamento. Pode-se conjecturar que essas plantas possuem alterações na via de transdução de sinal do fitocromo.

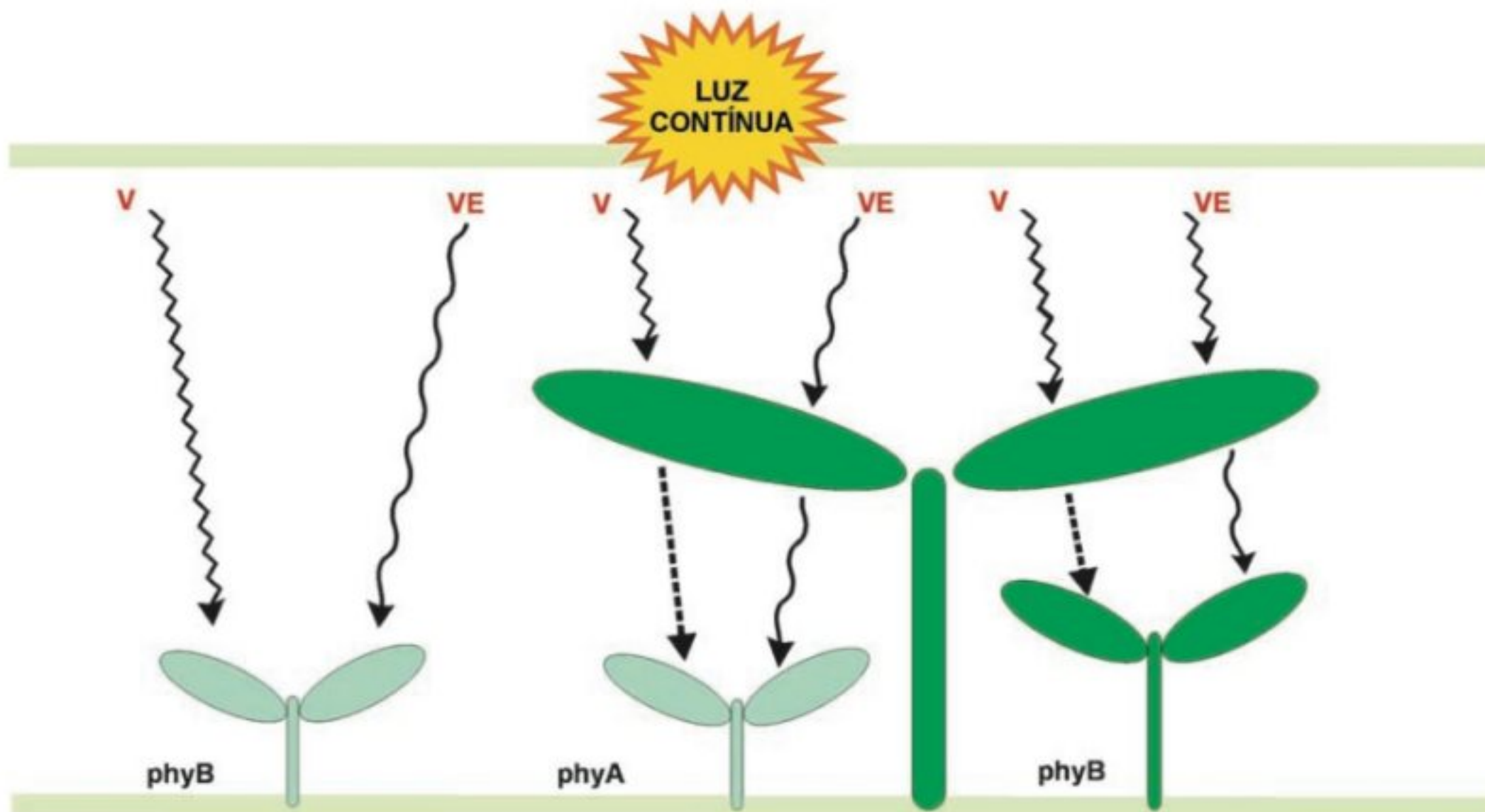


FIGURA 15.15

Efeitos de phyA e phyB na evitação à sombra. Plantas crescendo em clareiras (ambiente rico em luz V) acumulam preferencialmente phyB. Plantas em condições sombreadas (ambiente rico em luz VE) acumulam phyA. Como phyA é instável, ao ser degradado ele é posteriormente substituído por phyB. (Modificado de Taiz & Zeiger, 2002.)

ocorre apenas em locais sombreados. Sendo phyA lábil e intensamente degradado pela luz, a resposta de plantas intolerantes à condição de sombreamento (maior proporção de fótons VE) passa a ser assumida por phyB, permitindo a aceleração da taxa de alongamento do caule, resposta típica de evitação de sombra (Taiz & Zeiger, 2002).

Detecção da aurora e do crepúsculo e sincronização do relógio biológico

O enriquecimento da radiação ambiental com VE no início e final do dia é percebido pelo fitocromo. Tal percepção promove a sincronização do oscilador endógeno (relógio biológico) aos ciclos naturais de claro e escuro durante 24 horas (ver Cap. 17, Ritmos Circadianos nas Plantas). Nos ritmos circadianos, a operação do oscilador endógeno ajusta eventos fisiológicos e bioquímicos para que ocorram em certas horas do dia. Um único oscilador pode estar acoplado a múltiplos ritmos circadianos, que podem ocorrer em vários momentos diferentes do ciclo de 24 horas.

Percepção fotoperiódica

Muitas espécies vegetais têm várias etapas do seu ciclo de vida controladas pelo fotoperíodo. Os fitocromos estão envolvidos na percepção do fotoperíodo. A percepção fotoperiódica pode desencadear o início da fase reprodutiva (indução do desenvolvimento de gemas florais), da dormência ou da formação de órgãos de reserva (tubérculos, raízes tuberosas, bulbos), dependendo da espécie e do momento do seu ciclo de vida. No fotoperiodismo, o fitocromo interage com o relógio biológico das plantas, sinalizando as estações do ano. A interação entre o fitocromo e o relógio biológico é um processo complexo e ainda controverso.

A percepção do fotoperíodo pelas plantas sinaliza mudanças no padrão de desenvolvimento, definindo a época em que determinados eventos importantes, como o florescimento, irão ocorrer (ver Cap. 18, Floração). Ou seja, o sinal fotoperiódico promove o ajuste (sincronização) das diferentes fases do ciclo de vida de uma espécie às variações sazonais do ambiente. Isso assume uma importância vital nas regiões de clima temperado, onde as estações do ano são bastante diferentes e definidas. Por outro lado, em regiões tropicais ou subtropicais, o florescimento induzido por fotoperíodos, ainda que essa variação seja pequena, pode garantir uma sincronia com a disponibilidade de água, polinizadores ou ausência de outras espécies competidoras durante a germinação subsequente das sementes formadas.

FOTOMODULAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO PELA LUZ AZUL

Luz azul e UVA (ultravioleta banda A), não-direcional, promovem várias respostas em plantas, tais como inibição do alongamento do caule e hipocótilo, expansão foliar, floresci-

mento fotoperiódico, interação com o relógio biológico, estimulação da síntese de clorofilas e carotenóides, síntese de antocianinas, movimento estomático e controle da expressão de genes. Estudos envolvendo a técnica molecular de “análise de microarranjos”* indicaram que 1/3 dos genes de *Arabidopsis* altera o seu padrão de expressão em resposta à luz azul (Lin & Shalitin, 2003).

Luz azul e UVA, direcional, promovem a expansão assimétrica do caule, levando à curvatura fototrópica em direção à fonte de luz (ver Cap. 16, Movimento nas Plantas). A análise genética de mutantes fotomorfogênicos indicou que as respostas à luz azul são mediadas por vários fotorreceptores diferentes. Os mutantes *hy4* e *blu 1, 2 e 3* de *Arabidopsis* não apresentam inibição do alongamento do hipocótilo em presença da luz azul, mas mantêm curvatura fototrópica similar ao genótipo selvagem em resposta à luz direcional. Inversamente, outros dois mutantes diferentes de *Arabidopsis* mostraram-se insensíveis à luz azul direcional, ou seja, não manifestaram curvatura fototrópica, mas apresentam a inibição típica do alongamento do caule em resposta à luz azul não-direcional. Essas observações permitiram concluir que existem fotorreceptores separados para a percepção do sinal de luz azul direcional e não-direcional (Quail, 1994).

Os criptocromos medeiam a percepção da luz azul não-direcional. Plantas deficientes em criptocromo apresentam hipocótilo alongado em presença de luz azul. Desde o isolamento do primeiro criptocromo em *Arabidopsis* (CRY1), em 1993, criptocromos têm sido encontrados em todas as células eucarióticas estudadas. Em *Arabidopsis*, foram identificados dois genes que codificam criptocromos (CRY1 e CRY2) e, no tomateiro, três genes (CRY1a, CRY1b e CRY2). Os criptocromos vegetais são flavoproteínas que apresentam, em sua região protéica associada ao cromóforo, uma grande similaridade estrutural com as *fotoliasas* presentes em procariotos e eucariotos. Fotoliasas são proteínas reparadoras de DNA ativadas pela radiação UV. Acredita-se que as fotoliasas sejam progenitoras evolutivas dos criptocromos. Os criptocromos são proteínas nucleares que medeiam o controle das taxas de alongamento do caule, a expansão foliar, o controle fotoperiódico e o relógio biológico circadiano. Estudos recentes indicam que os criptocromos apresentam fosforilação dependente de luz azul. Tal evento afetaria a sua conformação, suas interações intermoleculares e sua atividade fisiológica (Lin & Shalitin, 2003).

A luz azul direcional apresenta um pico de absorção em 370 nm (UVA) e três picos diferentes no azul (400 a 500 nm). Os fotorreceptores responsáveis pela resposta fototrópica foram denominados *fototropinas*. Até o momento foram

*N.A.: A análise de microarranjos (*microarrays*) consiste, basicamente, na detecção de quais genes estão sendo expressos em determinado tecido ou estágio do desenvolvimento vegetal. Isso é possível através da hibridação de seus cDNAs (obtidos de mRNAs desconhecidos) em placas contendo uma matriz de mRNAs de seqüências previamente conhecidas. Os projetos transcriptomas (ESTs) têm facilitado muito a análise de microarranjos, já que disponibilizam um grande número de mRNAs de seqüência conhecida.

encontrados dois genes que codificam fototropinas em *Arabidopsis* (*PHOT 1* e *PHOT 2*). As fototropinas são proteínas cuja metade C-terminal, isto é, a terminação polipeptídica em carboxila, é uma cinase serina/treonina. A metade N-terminal da proteína (terminação polipeptídica em grupo amino) liga-se a mononucleotídeos de flavina (FMN). Dados experimentais indicam que as fototropinas se autofosforilam ao absorverem luz azul.

REFERÊNCIAS

- Borthwick HA, Hendricks SB, Toole EH, Toole VK. Action of light on lettuce-seed germination. *Botanical Gazette*, 115:205-225, 1954.
- Casal JJ, Sánchez RA, Vierstra RD. Overexpression of oat phytochrome: A gene differentially affects stem growth responses to red/far red ratio signals characteristic of sparse or dense canopies. *Plant, Cell and Environment*, 17:409-417, 1994.
- Chory J. Light Modulation of Vegetative Development. *The Plant Cell*, 9:1225-1234, 1997.
- Hopkins WG. Photomorphogenesis – Responding to Light. In: *Introduction to Plant Physiology*. New York: John Wiley and Sons, Inc, 1995, p. 341-362.
- Kendrick RE, Georghiou K. The germination characteristics of phytochrome-deficient aurea mutant tomato seeds. *Physiologia Plantarum*, 82:127-133, 1991.
- Kendrick RE, Kronenberg GHM. (eds.). *Photomorphogenesis in Plants*, 2nd ed. Holanda: Kluwer Academic Publishers, 1994, p. 580.
- Labouriau LG. Fotoblastismo. In: *A Germinação das Sementes*. Washington DC: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Série de Biologia. *Monografia*, 24:79-99, 1983.
- Lin C, Shalitin E. Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 54:469-96, 2003.
- Nagy F, Schäfer E. Phytochromes control photomorphogenesis by differentially regulated, interacting signaling pathways in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 53:329-55, 2002.
- Quail PH. Photosensory perception and signal transduction in plants. *Current Opinion in Genetics and Development*, 4:652-661, 1994.
- Schmitt J, Wulff RD. Light spectral quality, phytochrome and plant competition. *TREE*, 8:47-51, 1993.
- Smith H. Light quality, photoperception, and plant strategy. *Annual Review Plant Physiology*, 33:481-518, 1982.
- Smith H, Whitelam GC. Phytochrome, a family of photoreceptors with multiple physiological roles. *Plant, Cell and Environment*, 13:695-707, 1990.
- Somers DE, Quail PH. Temporal and spatial expression patterns of *PHYA* and *PHYB* genes in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 7(3):413-427, 1995.
- Taiz L, Zeiger E. Phytochrome and light control of plant development. In: *Plant Physiology*, 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associated, Inc, Publishers, 2002, p. 375-402.
- Van Tuinen A, Kerckhoffs LHJ, Nagatani A, Kendrick RE, Koornneef M. Far-red light-insensitive, phytochrome A-deficient mutants of tomato. *Molecular and General Genetics*, 246:133-141, 1995a.
- Van Tuinen A, Kerckhoffs LHJ, Nagatani A, Kendrick RE, Koornneef M. A temporary red light-insensitive mutant of tomato lacks a light-stable, B-like phytochrome. *Plant Physiology*, 108:939-957, 1995b.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Salisbury FB, Cleon WR (ed). Photomorphogenesis. In: *Plant Physiology*, 4th ed. Belmont, California: Wadsworth, Inc, 1992, p 438-463.
- Taiz L, Zeiger E. O Fitocromo e o Controle do Desenvolvimento, 3^a ed. Porto Alegre: ARTMED Editora, 2004, p 401-427.
- Taiz L, Zeiger E. Respostas à Luz Azul: Movimentos Estomáticos e Morfogênese, 3^a ed. Porto Alegre: ARTMED Editora, 2004, p 429-447.

Movimentos em Plantas

Alfredo Gui Ferreira e Arthur Germano Fett-Neto

INTRODUÇÃO

A capacidade das plantas fanerogâmicas de movimentar-se é pequena e, em geral, passiva, como em muitas plantas aquáticas flutuantes não-fixas. Os movimentos, quando existem, restringem-se a órgãos como ramos, raízes, flores ou folhas.

As respostas podem ser orientadas em relação ao estímulo, os **tropismos**; ou não direcionadas em relação a ele, os **nastismos**. Pode haver crescimento, ou seja, aumento de tamanho e/ou número de células, sendo nesse caso irreversível, ou apenas variação de turgor, quando então é reversível. Num mesmo organismo, podem ocorrer respostas trópicas e/ou násticas independentes ou associadas (Tabela 16.1).

As plantas recebem *estímulos* do ambiente e são *induzidas* a respostas através de *receptores* ou *sensores* que sofrem alterações e conduzem a mudanças metabólicas.

Assim, três etapas dos movimentos podem ser estabelecidas:

Percepção – detecção de estímulo ambiental. Por exemplo, qual pigmento absorve a luz que causa o fototropismo, ou o que, nas células ou tecidos, percebe a gravidade? Por vezes, esses tipos de perguntas são de difícil elucidação, porque as respostas de órgãos, como folhas, raízes e caules, não são especializadas em responder a um só tipo de estímulo.

Transdução – como o estímulo migra por dentro da célula? Qual *signal* é enviado? Quais são as mudanças bioquímicas e biofísicas que ocorrem em resposta ao estímulo? Mensageiros químicos e mudanças de potencial elétrico são integrantes plausíveis dessas explicações.

Respostas – como a planta reage ao estímulo? O que realmente acontece durante o movimento? Muitas explicações para o movimento das plantas, que pareciam coerentes há décadas, hoje são contestadas, especialmente em nível celular.

TROPISMOS

Fototropismo

A luz determina a direção do movimento. Como as plantas, na sua grande maioria, reagem à luz, o fototropismo é largamente distribuído no reino vegetal. Esse fenômeno era denominado anteriormente heliotropismo, resposta à luz provinda do Sol.

Charles Darwin (1880), o mesmo que formulou a teoria da Evolução das espécies, observou que, em alpiste (*Phalaris canariensis*), o coleóptilo (folha primordial das gramíneas) orientava-se em relação a um estímulo continuado de luz difusa, porém tal não acontecia se a ponta fosse seccionada ou recoberta por um anteparo opaco. Quando o recobrimento era feito abaixo da ponta, o fototropismo ainda era observado (Fig. 16.1). No entanto, aumentada a intensidade luminosa, a *percepção* também ocorria fora do ápice. Ou seja, este é mais sensível, respondendo mesmo em intensidade luminosa baixa.

Isso nos remete à questão de relação entre dose e resposta, aplicando-se a *lei da reciprocidade*, segundo a qual a resposta é proporcional à duração da exposição e à energia ou fluxo fotônico (taxa de fluência). Então, o fluxo e a duração criam uma reciprocidade entre si; um aumentando, o outro pode diminuir. Isso parece ser verdadeiro para a resposta de primeira ordem (resposta inicial, mais efêmera), dentro de certos limites. As respostas de curvatura de segunda ordem (que surgem após exposições mais prolongadas) são mais duradouras e dependem da duração e da taxa de fluência de forma cumulativa. Este padrão gera uma curva característica de resposta (curvatura) fototrópica em relação à exposição luminosa direcional em coleótilos de aveia (Fig. 16.2).

Quase simultaneamente, Cholodny, com ápices de raízes, e Went, com ápice de coleóptilo, determinaram que esses tinham influência sobre a manifestação fototrópica que ocorria na região posterior de alongamento. Dessa forma, a hipótese de Cholodny-

TABELA 16.1
Sinopse dos principais movimentos em plantas

Fenômeno	Características
Tropismos	Movimento orientado à direção do estímulo na planta.
Fototropismo	Resposta de crescimento diferencial a estímulo de luz fornecido unidirecionalmente.
Escototropismo	Orientação de crescimento em direção ao lado menos iluminado.
Gravitropismo (geotropismo)	Orientação de crescimento em resposta à força da gravidade terrestre. Pode ser positivo ou negativo.
Diagravitropismo	Orientação da resposta de crescimento em ângulo de 90° em relação ao estímulo.
Plagiogravitropismo	Orientação da resposta de crescimento em ângulo entre >0° e >90° em relação ao estímulo.
Tigmotropismo	Resposta de crescimento diferencial orientada pelo contato físico.
Hidrotropismo	Resposta de crescimento orientada em relação ao gradiente de umidade.
Quimiotropismo	Resposta de crescimento em relação ao gradiente de alguma substância química.
Nastismos	Movimento de reação ao estímulo não orientado a este.
Epinastia	Crescimento maior na parte superior do órgão, provocando uma curvatura para baixo.
Hiponastia	Crescimento maior na parte inferior do órgão, provocando curvatura para cima.
Termonastia	Movimento em resposta a variações de temperatura.
Hidronastia	Enrolamento de órgãos em resposta à falta de água.
Nictinastia	Respostas de variação de turgor em resposta a transições de luz — escuro, que provocam curvamento das folhas, por exemplo.
Tigmonastia	Resposta a estímulo mecânico não orientada em relação a este.

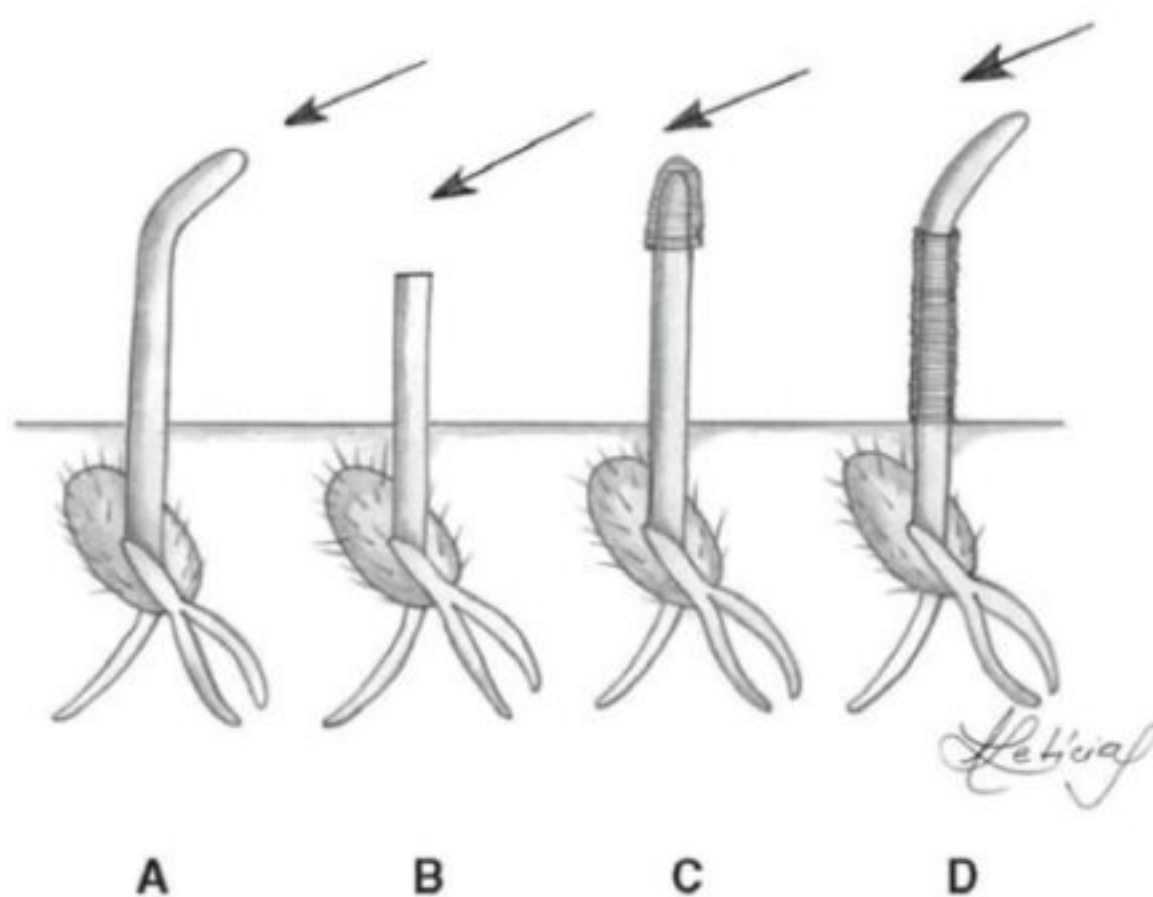


FIGURA 16.1

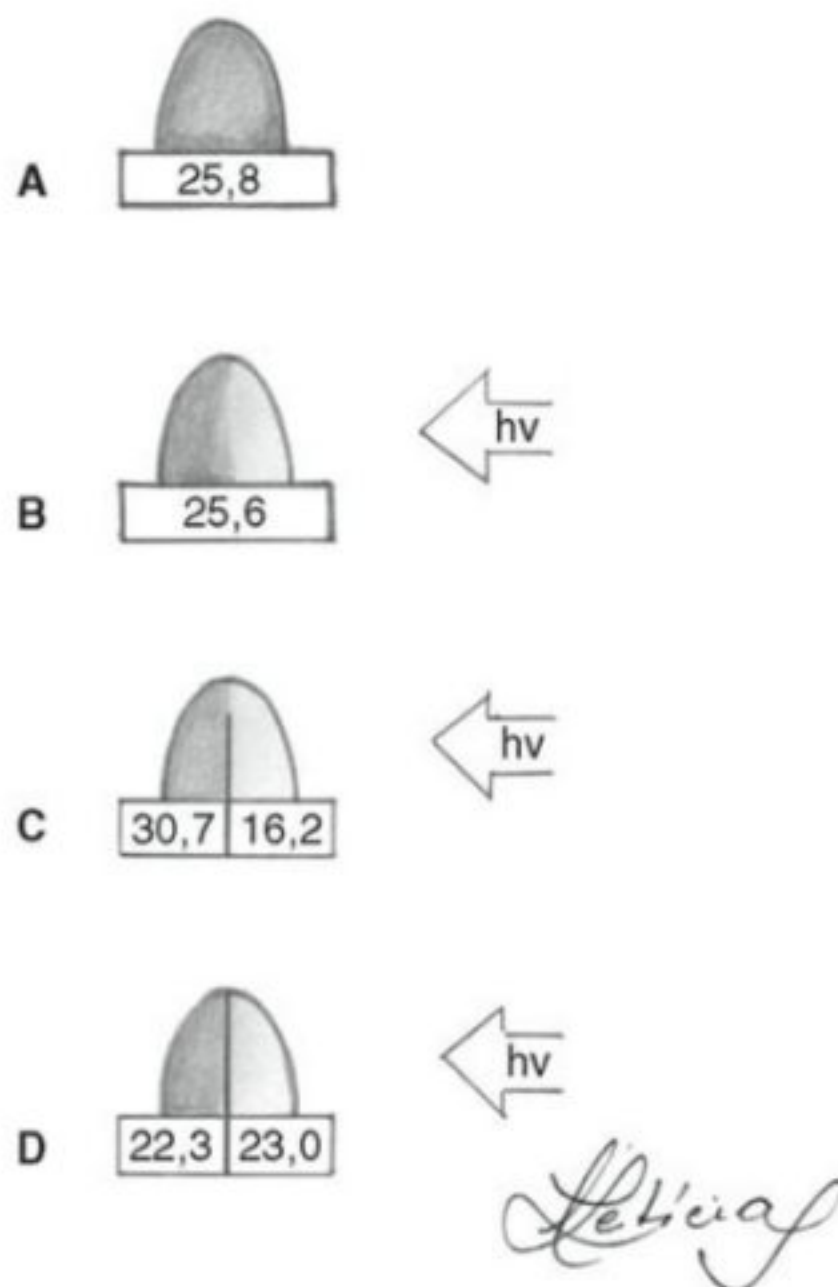
Fototropismo em coleótilos de aveia desenvolvidos no escuro e depois iluminados lateralmente conforme a seta. As plantinhas com ápice cortado ou coberto (B e C) permaneceram retas, e aquelas mantidas intactas (A) ou com seus ápices expostos (D) curvaram-se em direção à luz.

Went postula que a iluminação unilateral induz a redistribuição da auxina endógena nas proximidades do ápice. Essa assimetria na distribuição da auxina é mantida, nessas condições, no transporte basípeto desse fitormônio, observado na região de alongamento. As células do lado sombreado receberiam mais auxina, estimulando o crescimento na parte aérea e causando inibição deste nas raízes, presumivelmente em função de diferenças de sensibilidade (disponibilidade de receptores de auxina, como TIR1 – ver Cap. 9, Auxinas) destes órgãos ao fitormônio. Alternativamente, foi proposto que, no lado mais iluminado, haveria maior destruição das auxinas pela AIA-oxidase, que seria foto-dependente. Uma segunda hipótese alternativa foi aquela sugerida por A.R. Blaauw, propondo que a produção ou liberação de um inibidor de crescimento no lado mais iluminado limitaria ou impediria o crescimento celular. Concebida mais ou menos na mesma época da teoria de Cholodny-Went, esta última hipótese recebeu apoio de poucos adeptos. No final da década de 1980, foi retomada por alguns autores, os quais sustentam haver um gradiente entre a parte iluminada e a menos iluminada, com maior concentração de inibidores de crescimento (p. ex., ácido abscísico, *cis*-xantoxina) no lado mais iluminado em espécies como girassol e rabanete. Briggs e cols., em cuidadosos expe-

**FIGURA 16.2**

Curva típica de resposta à fluência para o fototropismo em coleótilos de aveia iluminados unilateralmente com luz azul.

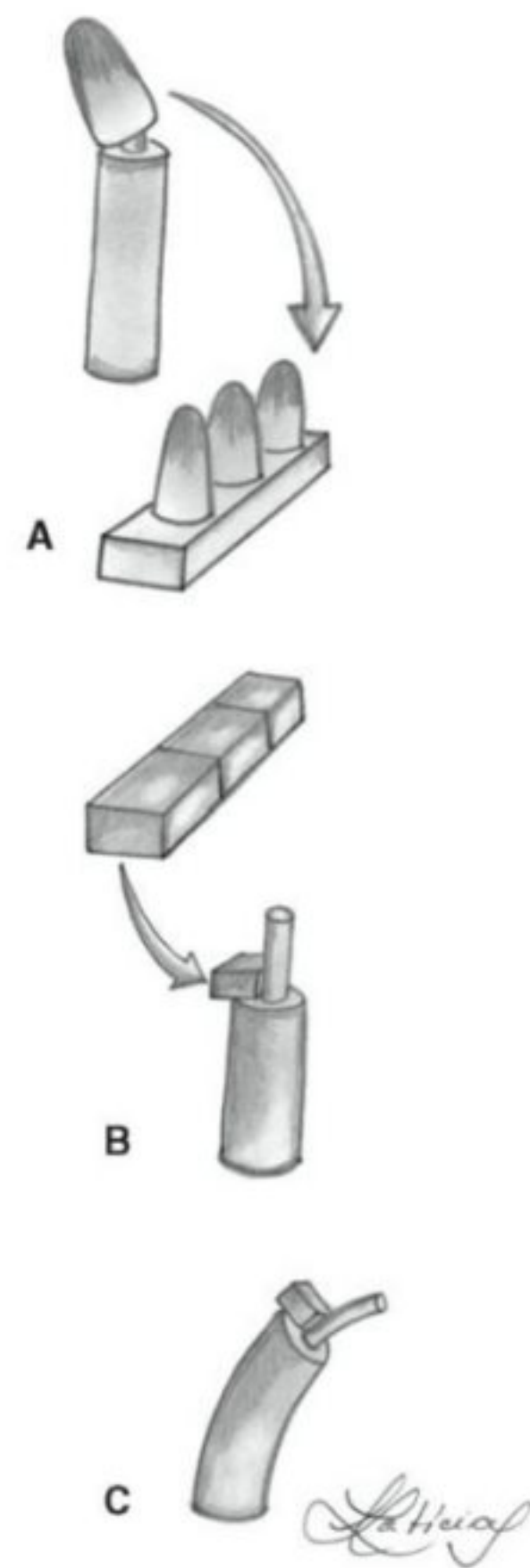
rimentos, mostraram, repetindo alguns estudos de Went, que, em coleótilos de milho, aconteciam dois fenômenos na distribuição da auxina: (1) havia distribuição assimétrica do fitormônio, se o ápice não fosse totalmente isolado; (2) a quantidade total de fitormônio no lado mais iluminado, comparada com a da parte menos iluminada, era a mesma, se o ápice fosse totalmente fendido (Fig. 16.3). Demonstraram, ainda, que a

**FIGURA 16.3**

Distribuição assimétrica da auxina difusível em ápices de coleótilos excisados de milho após a estimulação fototrópica. A e B. Ápices – controles intactos. C. Ápice parcialmente fendido, isolado por lâmina de vidro, onde apenas muito próximo ao ápice havia sido mantida a continuidade do tecido. D. Ápice totalmente fendido e isolado pela barreira. Os números indicam a quantidade relativa de auxina coletada nos blocos de ágar depois de 3 horas, com base no bioensaio de grau de curvatura do ápice de aveia.

iluminação na faixa do comprimento de onda azul, que é a mais eficiente para as respostas fototrópicas, poderia ser compensada pela colocação de um bloco de ágar com auxina do lado não iluminado (Fig. 16.4).

Os fotorreceptores responsáveis pela percepção de luz na resposta fototrópica são as fototropinas. Estas flavoproteínas são serina/treonina cinases fotorreceptoras associadas à membrana plasmática. Possuem como característica estrutural principal a presença de dois domínios protéicos denominados LOV (motivo protéico comum em proteínas reguladas por luz, oxigênio e voltagem), os quais ligam flavina mononucleotídeo (FMN). Portanto, cada molécula de fototropina possui dois cromóforos iguais de FMN. A faixa principal de absorção de luz pelas fototropinas é o azul/UV-A

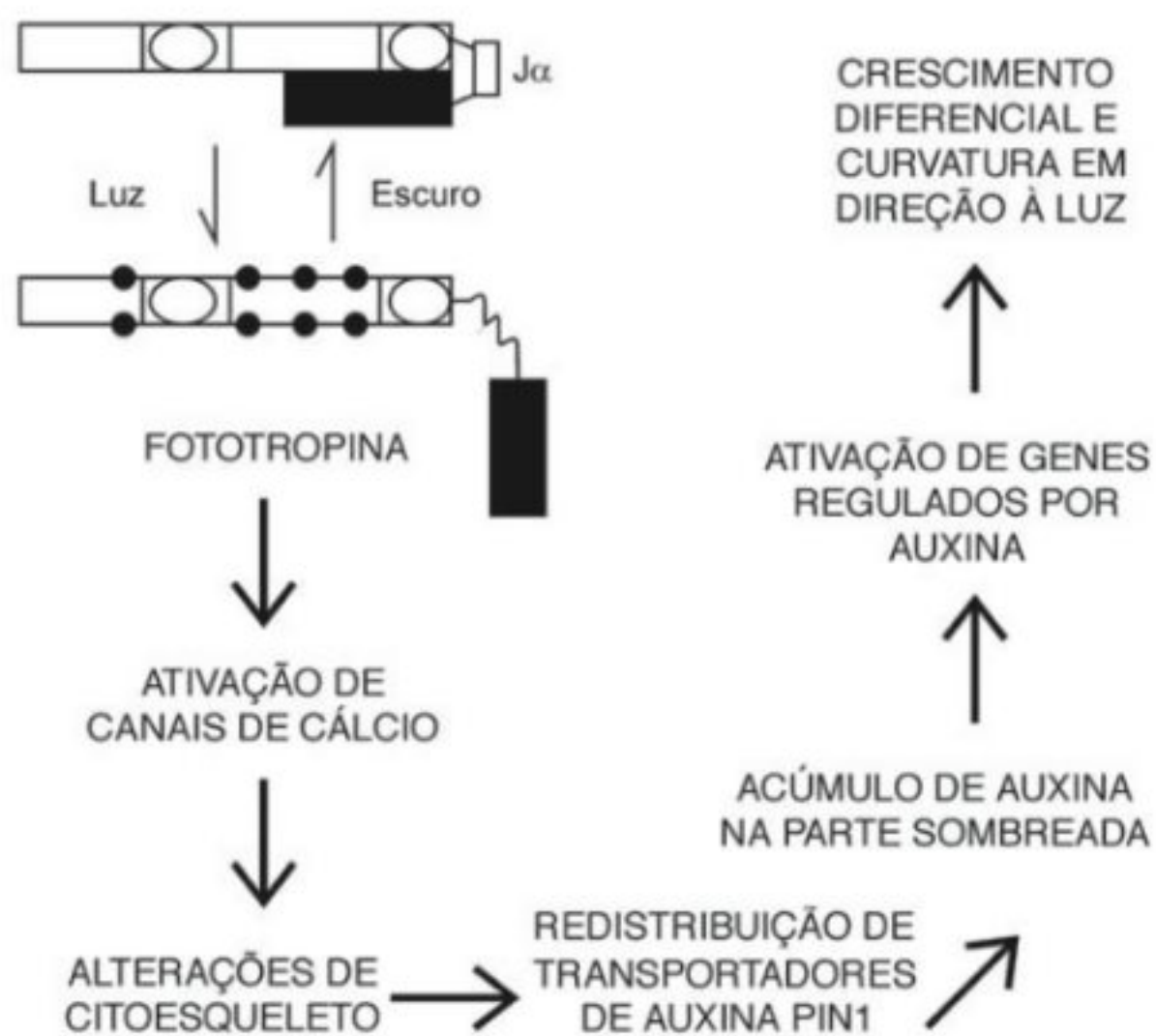
**FIGURA 16.4**

Experimentos de F. Went. A. As extremidades dos coleótilos foram removidas e colocadas por 1 hora sobre blocos de ágar. B. O ágar, após retirada dos ápices de coleótilos, foi cortado em pequenos pedaços e colocado assimetricamente sobre o coleótilo não induzido. C. Curvatura do ápice para o lado oposto ao pedaço de ágar. Os experimentos foram conduzidos no escuro, e a curvatura do coleótilo decapitado deu-se à semelhança daqueles intactos iluminados lateralmente. Conclusão chegada por Went: era químico o fator que provocava o encurvamento, e este se acumulava no lado oposto ao iluminado.

(320-500 nm). Cada domínio LOV desempenha funções distintas na regulação de ativação do fotorreceptor.

A indução de atividade de fototropina cinase pelo domínio LOV2 ocorre por meio de modificações estruturais acionadas por luz, as quais envolvem uma alfa-hélice conservada, denominada $J\alpha$. A autofosforilação de fototropinas ocorre em múltiplos resíduos aminoacídicos de serina de modo fluência-dependente. Esta fosforilação parece desempenhar papel na sinalização, dessensibilização ou realocização do receptor.

O mecanismo da resposta fototrópica parece envolver uma sequência que se inicia com a absorção de luz principalmente pela FMN do domínio LOV2, seguida de um rearranjo da hélice $J\alpha$ e ativação do domínio cinase C-terminal, o que conduz à autofosforilação do fotorreceptor e, possivelmente, à fosforilação de substrato(s) protéico(s) ainda não conhecidos. Em seguida, ocorreria a ativação de canais de cálcio (Stoelzle *et al.*, 2003) e modificação do citoesqueleto, resultando na realocização de transportadores de auxina (notadamente o transportador de saída PIN1) (Blakeslee *et al.*, 2004). Esta situação conduziria a um maior acúmulo de auxina na parte sombreada do caule, resultando em crescimento diferencial em direção à luz. A estrutura básica das fototropinas, os eventos de sinalização via fototropinas e o mecanismo hipotético da resposta fototrópica estão representados no Esquema 16.1:



Mecanismo hipotético do fototropismo em caules. No diagrama de fototropina, os cromóforos de flavina estão representados por elipses nos domínios LOV, o domínio C-terminal com atividade de cinase é a porção sólida após a hélice J ($J\alpha$), e os pontos escuros correspondem aos sítios de fosforilação.

Há duas fototropinas em *Arabidopsis thaliana* e ambas atuam na resposta fototrópica. Além deste tipo de resposta, as fototropinas participam da regulação de abertura estomática por luz azul, expansão de cotilédones e folhas e movimentos de cloroplastos (acumulação para interceptação de luz sob baixa irradiância) e,

possivelmente, movimentos de orientação foliar em resposta à luz azul, porém não relacionados ao controle circadiano (Christie, 2007). Fototropina 1 ainda está envolvida na inibição do crescimento do hipocótilo e desestabilização de alguns mRNAs induzidas por luz. Fototropina 2 participa da resposta de espalhamento de cloroplastos para evitar a alta irradiância. De maneira geral, as fototropinas têm o importante papel de controlar diversas funções que otimizam as respostas fotossintéticas das plantas.

Embora as respostas fototrópicas da parte aérea sejam semelhantes entre gramíneas e várias dicotiledôneas, foi observado que, em pepino, havia respostas quando irradiado com luz vermelha, sugerindo uma mediação, nesse caso, pelo fitocromo. Em *Arabidopsis*, fitocromos também parecem influenciar a curvatura fototrópica. É interessante observar que na pteridófito *Adiantum* (avenca) existe um pigmento fotorreceptor misto, denominado neocromo, que reúne um cromóforo fitocromobilina e dois FMN, além de domínio N-terminal fotossensor similar ao fitocromo e C-terminal com domínio serina/treonina cinase similar aos das fototropinas (Christie, 2007).

Caldas e cols. (1997), no Brasil, estudaram a posição dos folíolos da Fabaceae *Pterodon pubescens* em relação à luz solar. Verificaram que, em ambiente de cerrado da região tropical, onde há forte estresse pela alta insolação, os folíolos assumiam uma posição para-fototrópica (posição paralela à radiação), diminuindo assim os efeitos da alta irradiação. Esse comportamento difere daquele observado em plantas como o algodão, a soja e a alfafa, em que as folhas se orientam em relação ao Sol, só que as respostas são diafototrópicas, colocando-se as folhas ortogonais à fonte luminosa (Fig. 16.5). Esse comportamento é devido à variação de turgor das células motoras na base dos pecíolos e/ou folíolos.

Outro interessante comportamento observável é das plantinhas de *Monstera gigantea*, planta hemiepipífita do interior de matas. Inicialmente a parte aérea apresenta orientação em direção ao local menos iluminado, normalmente devido ao sombreamento de um tronco próximo. Isso aparentemente é um fototropismo negativo, que desaparece quando a planta já cresceu o suficiente para ter início o apoio sobre o tronco. Daí em diante, há uma espécie de reversão e a parte aérea de *M. gigantea* assume o fototropismo positivo usual na parte aérea das plantas-suportes. Esse comportamento é denominado **escototropismo** (do grego *skotos*, penumbra; *trope*, direcionamento).

Gravitropismo

É a resposta de crescimento na qual a planta se orienta em relação ao vetor gravidade (anteriormente denominada de geotropismo).

Usualmente, as raízes orientam-se positivamente em relação ao estímulo gravidade, permitindo a ancoragem da planta ao solo e facilitando a absorção de água e sais minerais. A parte aérea responde negativamente ao estímulo, tornando possível a captura de energia radiante de forma mais eficiente, importante para a fotossíntese e controle de outros processos de desenvolvimento.

Há órgãos como estolões, rizomas e galhos laterais que crescem em ângulo reto à força da gravidade e são denominados de **diagravitrópicos** (Fig. 16.6). Órgãos que crescem em ângulos diferentes de 0° ou 90° , como muitas raízes secundárias, são então denominados de **plagiogravitrópicos** (Fig. 16.7).

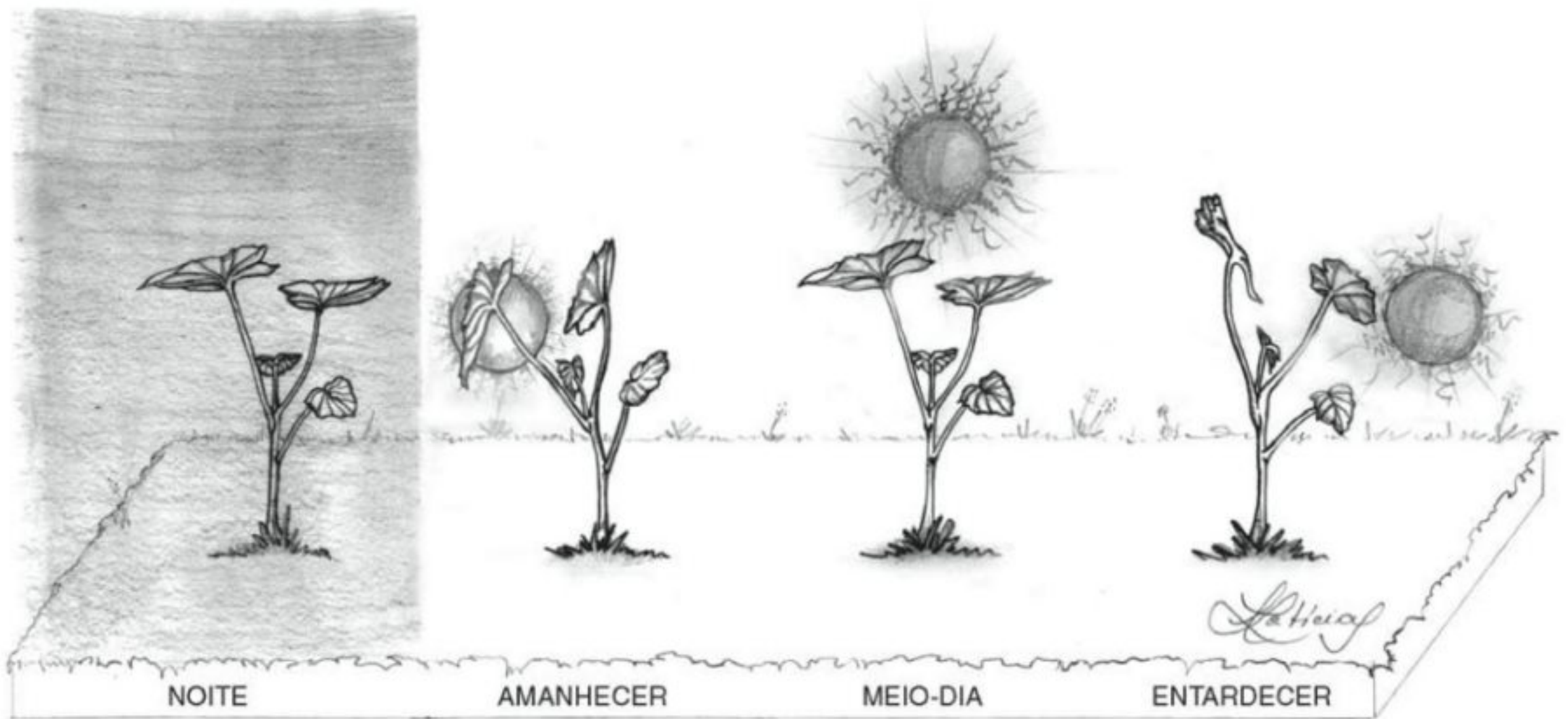


FIGURA 16.5

Orientação das folhas de malva em relação à posição do Sol durante um dia. O limbo posiciona-se de forma a receber os raios solares o mais ortogonalmente possível. Nas regiões tropicais, o comportamento pode ser distinto (devido à alta intensidade luminosa).



FIGURA 16.6

Araucaria angustifolia no sul do Brasil, na qual se pode observar o diageotropismo dos galhos. (Foto de R. Zandavalli.)

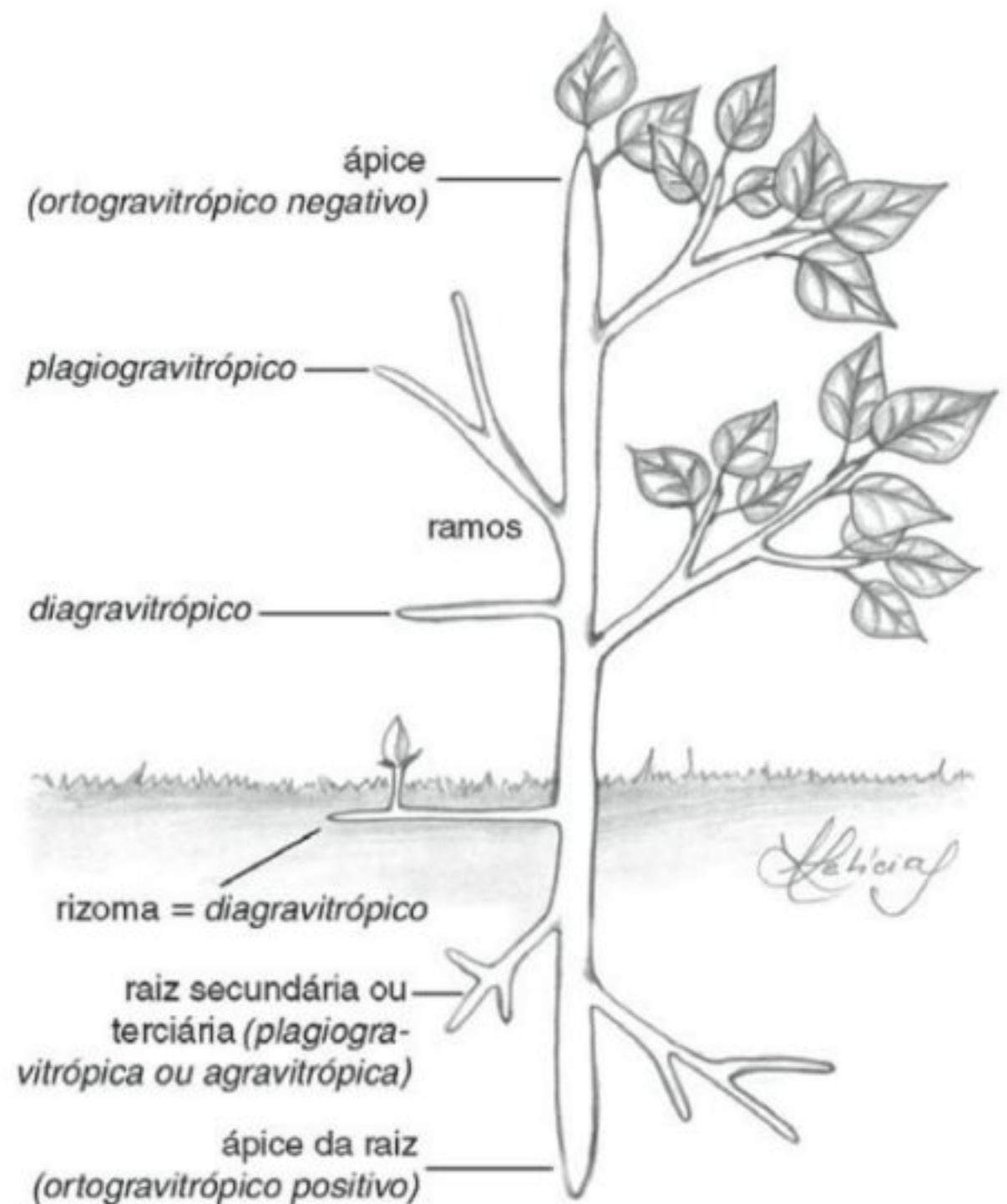


FIGURA 16.7

Diagrama ilustrando os vários tipos de respostas gravitópicas em plantas.

Ao contrário da temperatura, ventos e quantidade de insolação, a força da gravidade é constante num mesmo local. Assim, é um balizador muito regular do desenvolvimento, e as plantas encontram-se bem adaptadas a este estímulo. Isso induz a pensar que as plantas devem ter percepção da força da gravidade.

RAÍZES

Percepção

Os **estatólitos**, descritos inicialmente para os crustáceos, foram identificados em plantas como grãos de amido em amiloplastos na coifa junto ao ápice meristemático das raízes. Os grãos sedimentar-se-iam junto às membranas no lado inferior das células (estatócitos), e este seria o sinal gravimétrico para o desenvolvimento. Isso explicaria as observações feitas anteriormente por Darwin de que raízes com pontas seccionadas não respondiam à força da gravidade. Essa teoria foi contestada mais tarde, pois, em plantas deixadas no escuro, nas quais o amido era consumido, ainda assim ocorriam reações gravitrópicas. Em mutantes de *Arabidopsis* deficientes na formação de grãos de amido, observou-se que ocorriam reações à força da gravidade, embora em intensidade menor, graças ao movimento dos cloroplastos.

A estimulação gravitacional é o produto da intensidade do estímulo pelo tempo de aplicação:

$$D = t \cdot a, \text{ onde } D = \text{estímulo gravitacional ou dose}$$

$$t = \text{tempo em segundos}$$

$$a = \text{aceleração da massa pela gravidade em gramas.}$$

A dose limiar é dependente da temperatura; dessa forma, para coleóptilos de aveia, a dose a 27°C é de 120 g.s., enquanto, à temperatura de 22°C, é de 240 g.s. Outros parâmetros interessantes quando se definem graviestímulos são: tempo de apresentação, tempo de reação e intensidade limiar.

A duração mínima do estímulo para induzir a curvatura define-se como **tempo de apresentação**. O tempo de apresentação também é função da temperatura, pois a 30°C ele é muito mais curto do que a 10°C. Em temperaturas mais baixas, a viscosidade do protoplasma é maior, dificultando a sedimentação dos estatólitos. Não deve ser confundida com o **tempo de reação**, pois, até haver a transdução da seqüência de sinais, pode ocorrer um tempo bem maior. Para o coleóptilo de milho, o tempo mínimo de apresentação foi de 9 segundos, mas o início visível da curvatura só se iniciou após 210 segundos. A **intensidade limiar** varia de planta para planta e de órgão para órgão. As raízes são cerca de 10 vezes mais sensíveis que a parte aérea.

Transdução e resposta

Parece bem estabelecido que o gravitropismo positivo apresentado pela maioria das raízes está vinculado à distribuição de um inibidor, o qual se torna mais concentrado do lado inferior da raiz. Dois fitormônios prevalecem, AIA e ABA. Embora o ABA possa inibir o crescimento das raízes, a concentração necessária encontrada experimentalmente foi de 100 a 1.000 vezes maior do que a ocorrente nas raízes que respondem à força da gravidade. Outros pesquisadores clamam por uma interação entre AIA e ABA. Porém, as evidências mais fortes apontam para o AIA, que, nas raízes, funcionaria como inibidor do crescimento do lado inferior. A remoção da ponta da raiz, com colocação de um bloquinho de ágar contendo AIA no lado inferior da raiz posicionada horizontalmente, provoca encurvamento semelhante ao da raiz intacta (Fig. 16.8). O lado superior da raiz intacta, depois de a planta permanecer certo tempo na posição horizontal, é mais ácido do que o lado inferior, e sabe-se que o crescimento de paredes depende de uma maior acidez, na qual está envolvido o efeito da auxina em concentrações estimulatórias.

Além do gradiente diferencial de auxina, também o Ca^{++} parece estar envolvido nas respostas gravitrópicas. Usando Ca^{++}

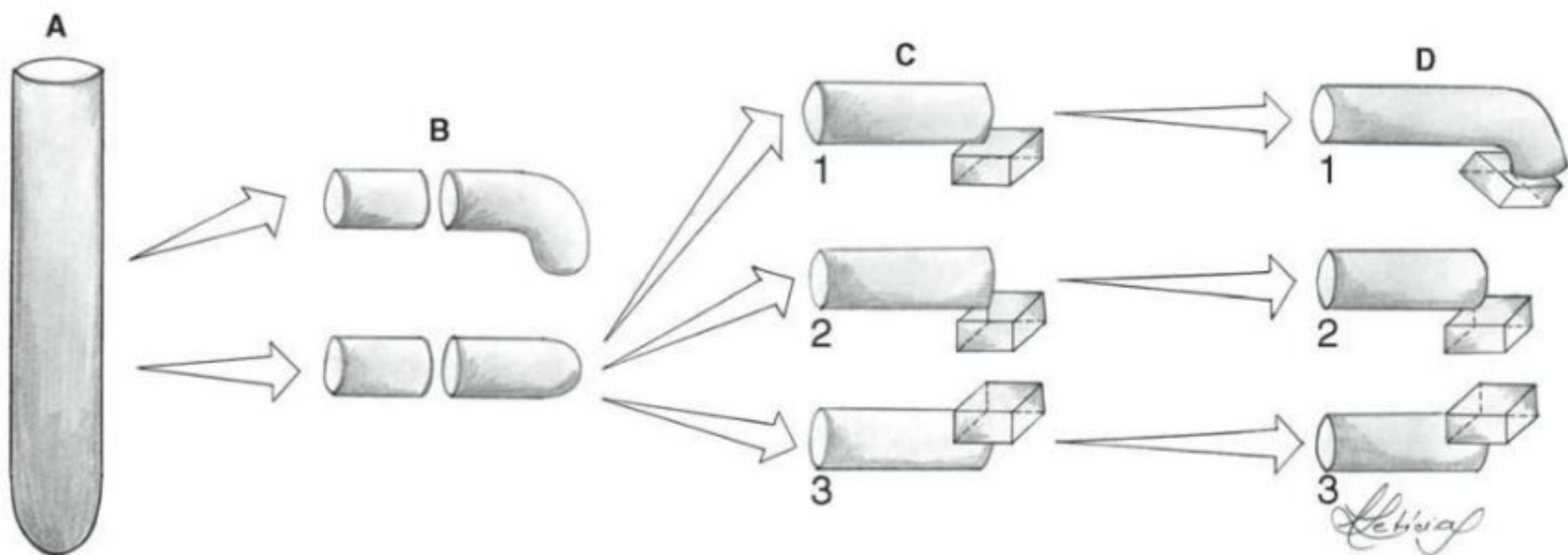


FIGURA 16.8

A. Ápice de raiz intacta de uma plantinha em posição normal vertical. B. Colocada na posição horizontal, quando intacta, apresenta gravitropismo; quando seccionada, não apresenta. C1. Raízes com a ponta seccionada na qual se adicionou um bloco de ágar com AIA. C2. Ágar sem AIA; não houve reação. C3. Bloco sem AIA colocado no lado de cima, sem reação. D1. Curvatura da raiz, apesar de seccionada, pela adição assimétrica do bloquinho de ágar com AIA. D2 e D3. Não foi observada nenhuma reação.

radioativo, evidenciou-se que havia maior concentração desse íon no lado inferior, e, além disso, a adição de EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*; em português, ácido etileno-diamino tetraacético), que seqüestra íons Ca^{++} , nulifica a resposta gravitópica. Da mesma forma que os blocos com auxina colocados assimetricamente substituem a ponta da raiz seccionada, ágar com íons de Ca^{++} podem provocar o mesmo efeito. A explicação evocada é de que os estatólitos depositados sobre as membranas, como as do retículo endoplasmático, a plasmática e mesmo as dos vacúolos, causariam um rearranjo do citoesqueleto e a abertura de canais de cálcio no tonoplasto e retículo endoplasmático, causando a entrada de grande quantidade deste íon no citoplasma. O cálcio poderia complexar-se à calmodulina e alterar a atividade de cinases e fosfatases, além de causar redistribuição de transportadores de auxina. Isto provocaria um maior acúmulo de auxina na porção inferior da raiz, causando a curvatura da ponta da raiz para baixo por crescimento inibido na parte inferior, mas não na parte superior.

CAULES E COLEÓPTILOS

Apresentam, em geral, gravitropismo negativo. Essa manifestação de gravitropismo negativo pode ser facilmente verificada, colocando-se na horizontal uma planta envasada. Deve-se realizar esse experimento no escuro, a fim de evitar mascaramento dos resultados por influências fototrópicas. Observar-se-á, após 24 a 48 horas, o caule assumir uma posição ereta a partir de uma porção mediana (Fig. 16.9).

Percepção

Nos caules, os lados de percepção e resposta são os mesmos. Isso é verdadeiro para coleóptilos, hipocótilos e caules adultos, mesmo que o ápice seja removido. De fato, no tecido parenquimático perivascular encontram-se grãos de amido que desempenham um papel de estatólitos, sendo células desse tecido os estatócitos do

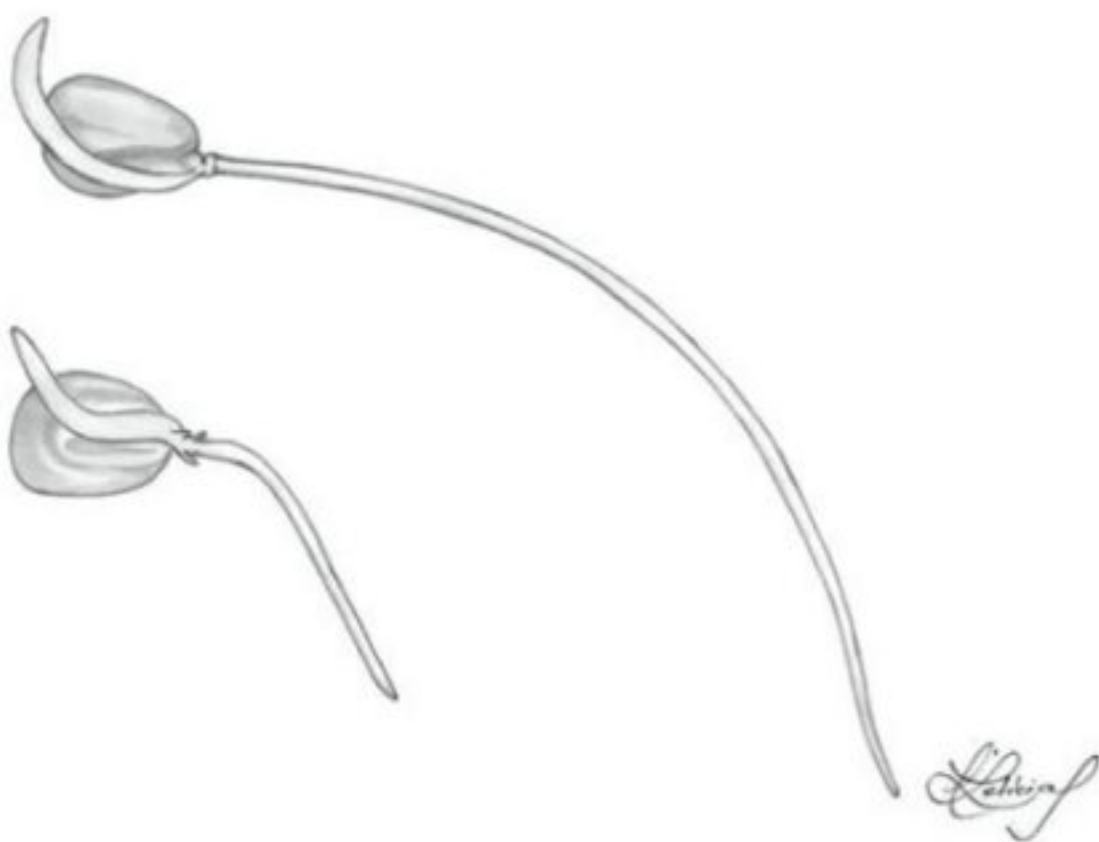


FIGURA 16.9

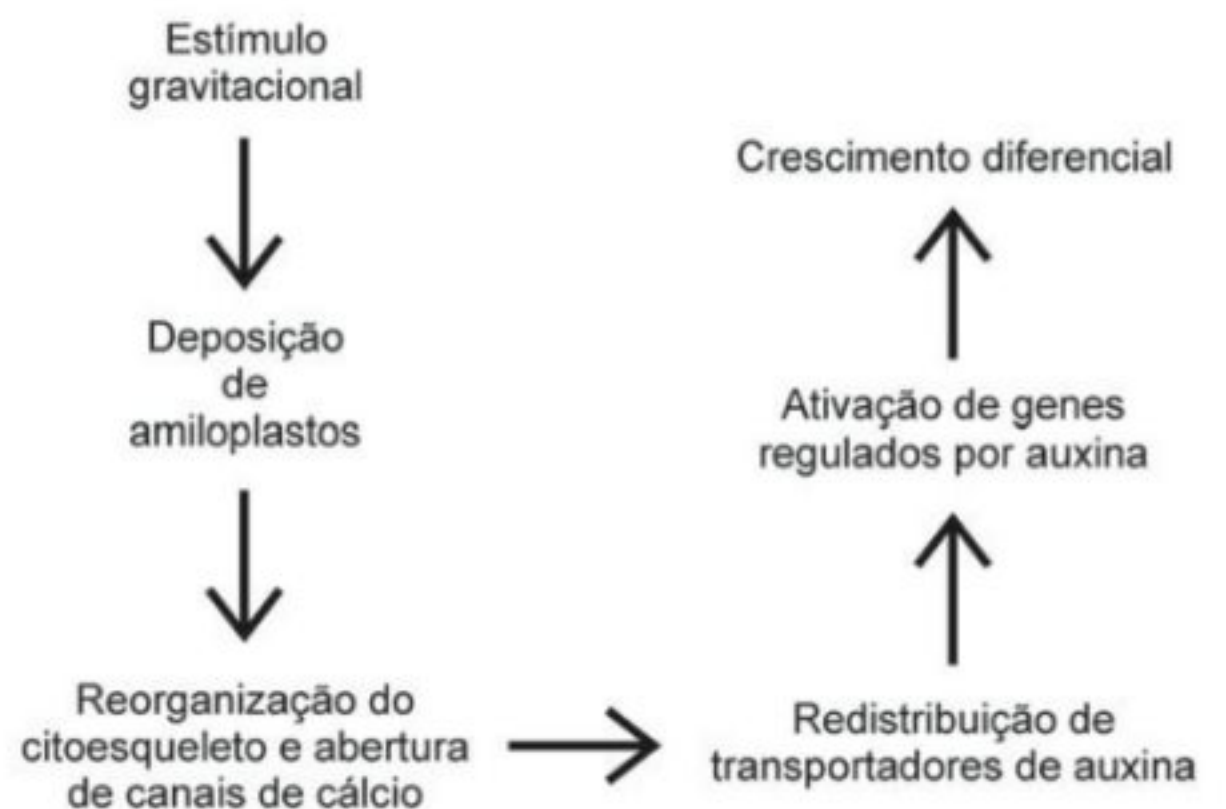
Gravitropismo em plantinhas de milho (*Zea mays*) colocadas, aos 4 dias de idade, na posição horizontal por 3 horas. Na parte aérea, observa-se o gravitropismo negativo, enquanto na raiz ele é positivo.

sistema. No tecido perivascular dos coleóptilos e dos hipocótilos, também podem ser encontrados esses estatócitos.

Transdução e respostas

Auxinas mover-se-iam para a parte inferior do caule colocado na posição horizontal, promovendo o crescimento nesse lado, à similaridade do modelo de Cholodny-Went. Porém, há críticos a essa interpretação, já que as respostas são muito rápidas para haver tempo de migração do fitormônio, e nem sempre parece que se estabeleceriam gradientes entre a parte superior e a inferior. Uma das explicações encontradas é de que o gradiente se estabeleceria nos tecidos epidérmicos, mais sensíveis às auxinas, pouco influenciando os tecidos das camadas mais internas, o que dificultaria a detecção dos gradientes. Outra coincidência em favor das auxinas é que, usando-se inibidores de transporte de auxinas, o crescimento foi inibido e não houve respostas gravitópicas. Há evidências de que outros fitormônios, como giberelinas e etileno, poderiam estar envolvidos no processo. Assim, tecidos tratados com AVG (amino-etoxivinilglicina), inibidor de produção de etileno, não apresentaram respostas gravitópicas negativas. No entanto, respostas ao etileno não são gerais, ou não puderam ser evidenciadas para hipocótilos de tomateiro.

Há evidências experimentais de que poderia haver mais sensibilidade ou maior quantidade de receptores capazes de ligar auxina na parte inferior do caule deitado do que na parte superior, além de que o Ca^{++} seria mais abundante na parte superior, onde inibiria o crescimento. Um mecanismo similar ao descrito para o gravitropismo de raízes, envolvendo deposição de estatólitos, rearranjo de citoesqueleto, abertura de canais de cálcio, atividade de cinases e fosfatases, redistribuição de transportadores de auxina e acúmulo de auxina na parte inferior, operaria na resposta gravitópica de caules. Porém, possivelmente por diferenças de sensibilidade à auxina entre caules e raízes, as respostas gravitópicas negativas num caule acontecem por um maior crescimento das células no lado inferior, enquanto as do lado superior não crescem ou até são amassadas pela distensão e mudança de direção do crescimento do caule. Um sumário do possível mecanismo gravitópico é apresentado no Esquema 16.2:



Seqüência hipotética de eventos do gravitropismo em plantas.

Outros tropismos

TIGMOTROPISMO

São respostas de crescimento orientadas pelo contato. São especialmente evidentes em gavinhas de chuchu e outras cucurbitáceas ou de videiras (Fig. 16.10). O mecanismo proposto é de que, no lado tocado, cessa o crescimento, o qual continua do lado oposto, fazendo com que a gavinha se enrole em torno do suporte tocado. É possível que a reação seja similar ao gravitropismo, ou seja, que envolva auxinas, Ca^{++} e calmodulina. Estudos usando plantas de ervilha e *Bryonia dioica* com aplicação de auxinas, agentes modificadores de microtúbulos e ionóforos, bem como envolvendo análises de auxinas endógenas, levaram à proposição de um mecanismo para o tigmotropismo (Engelberth, 2003). Segundo este modelo, o estímulo mecânico do contato com o suporte causaria uma deformação da parede celular, conduzindo a uma despolarização de membrana, mediada por microtúbulos



FIGURA 16.10

Gavinhas de *Cucumis anguria*. A curvatura foi causada por diferentes taxas de crescimento entre os lados interno e externo da gavinha, provocando o enrolamento do órgão.

via interface microtúbulos-membrana plasmática. A liberação de cálcio para o citoplasma e o aumento no teor de auxinas ativas que se seguiriam promoveriam a expansão celular. O estímulo mecânico também seria capaz de induzir explosão oxidativa junto à periferia da célula (por ação de NAD(P)H oxidases acionadas por proteínas G), bem como aumento no conteúdo de açúcares solúveis. Associados, estes eventos levariam ao crescimento em volta do suporte.

HIDROTROPISMO

É uma resposta a gradiente de água. Observável em raízes, particularmente de plantas lenhosas arbóreas, as quais investem mais fitomassa no crescimento de raízes localizadas em regiões do solo onde o potencial hídrico é menos negativo, ou seja, onde é mais fácil a absorção de água para funcionamento da planta, respondendo às perdas hídricas (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

QUIMIOTROPISMO

Exemplo típico é o crescimento do tubo polínico em direção ao óvulo nas flores, direcionamento esse induzido por arabino-galactanos, glicoproteínas e lipoproteínas, além de um potencial eletroquímico produzido por íons K^+ . A real natureza desse quimiodirecionamento a partir do ovário ainda é controversa, mas certamente essencial para o fenômeno da fertilização.

NASTISMOS

Nastismos são movimentos vegetais desencadeados por estímulos ambientais (muitas vezes interagindo com o relógio circadiano) nos quais a direção do estímulo **não** determina a direção do movimento. A direção do movimento é determinada principalmente pela anatomia das partes que se movem, e não pela natureza e direção do estímulo. Os nastismos podem envolver mudanças elásticas ou plásticas nas paredes celulares dos tecidos em movimento. Mudanças plásticas constituem crescimento diferencial (irreversível) e serão consideradas sucintamente neste capítulo. Mudanças elásticas consistem em alterações reversíveis de turgor em células especializadas, como, por exemplo, as células motoras que formam os pulvinos.

Além de serem subdivididos em movimentos por crescimento diferencial ou por variações de turgor, os nastismos também podem ser classificados quanto à natureza do estímulo desencadeador. Os principais tipos de nastismos causados por crescimento diferencial são epinastismos, hiponastismos e termonastismos. Os principais tipos de nastismos causados por variações de turgor são nictinastismo, hidronastismo e tigmonastismo.

Epinastismo e hiponastismo

Epinastismo corresponde ao movimento de curvatura de um órgão para baixo, causado por uma taxa de crescimento maior no lado superior do que no lado inferior deste. Epinastismo é geralmente observado em pecíolos e folhas cujas extremidades

se curvam para o solo. Embora não se trate de uma resposta à gravidade, epinastismos são provavelmente causados por um fluxo desigual de auxina pela parte superior e inferior do pecíolo. A resposta epinástica pode ser induzida por altas concentrações de auxina ou por etileno. Estudos com mutantes epinásticos de tomateiro sugerem que a indução de epinastia por auxina pode depender da síntese de etileno (talvez via indução da sintase do ácido amino-ciclopropano carboxílico – ACC – por auxina; ver Cap. 9, Auxinas). Epinastismo é bastante comum em plantas submetidas ao estresse de alagamento; nessa situação, há acúmulo de ACC nas raízes (onde a tensão de oxigênio é baixa), o qual é transportado para a parte aérea (em condições aeróbicas normais) e convertido a etileno pela oxidase do ACC. O etileno produzido na parte aérea contribui para o epinastismo de folhas e pecíolos (ver Cap. 13, Etileno). A resposta reversa ao epinastismo, o hiponastismo (isto é, curvatura de órgãos para cima devido a uma maior taxa de crescimento na parte inferior do órgão), ocorre com menos frequência e pode ser induzido por giberelinas.

Termonastismo

É um movimento repetitivo acionado por diferenças de temperatura. Esse tipo de nastismo, embora repetitivo, tem caráter permanente e resulta da alternância de crescimento diferencial nas duas superfícies dos órgãos envolvidos. Termonastismo pode ser observado na abertura e fechamento de flores de certas espécies, como a tulipa, e os órgãos envolvidos são os componentes do perianto. A redução de temperatura acelera o crescimento da face inferior da tépala, e o crescimento da face superior não se altera, ocasionando o fechamento da flor. Com o aumento de temperatura, a situação se inverte, causando abertura floral. Os movimentos de abertura e fechamento de algumas flores parecem ser desencadeados por alterações na disponibilidade de luz. As flores da vitória-régia (*Victoria amazonica*) abrem-se à noite e voltam a se fechar ao amanhecer, possivelmente por um mecanismo de crescimento diferencial. Nastismos resultantes de crescimento diferenciado, mas de caráter repetitivo, como abertura e fechamento de flores, podem ser causados não só por fatores externos, mas também por influência do relógio circadiano endógeno. Os nastismos observados na abertura e fechamento de flores possivelmente desempenham papel adaptativo na preservação de estruturas florais e na eficácia de polinização.

Hidronastismo

Corresponde ao dobramento ou enrolamento de folhas em resposta à falta de água (estresse hídrico). Esse nastismo é bastante comum em espécies de gramíneas crescendo em ambientes abertos e tem a importante função de minimizar a transpiração foliar, reduzindo a superfície de exposição ao ar seco e à insolação, complementando o papel do fechamento dos estômatos. Esse movimento é também importante na redução da fotoinibição da fotossíntese causada por alta intensidade luminosa (por exemplo, fotooxidação de antenas fotossintéticas). O mecanismo do movimento hidronástico é a perda diferencial de água em células foliares especiais dotadas de

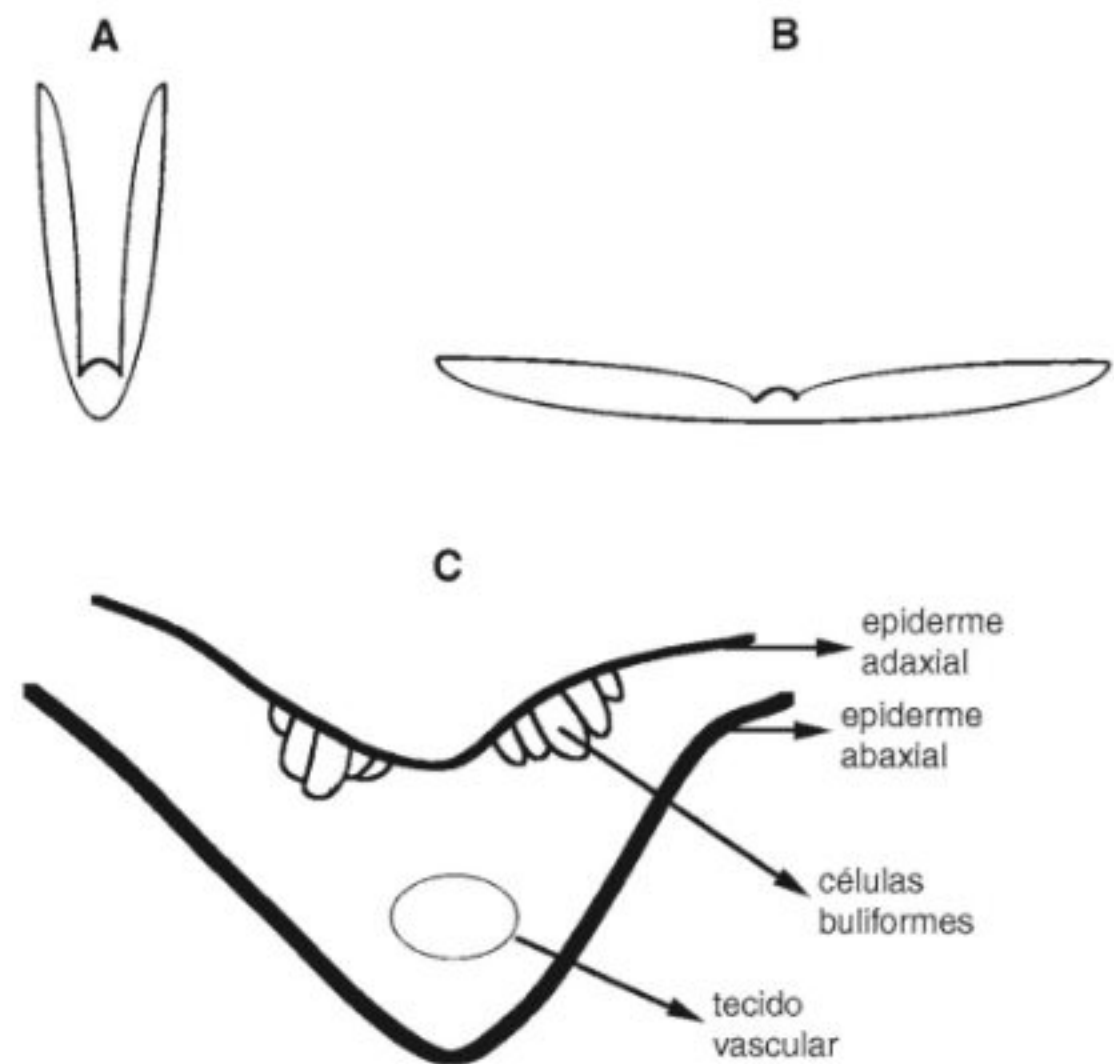


FIGURA 16.11

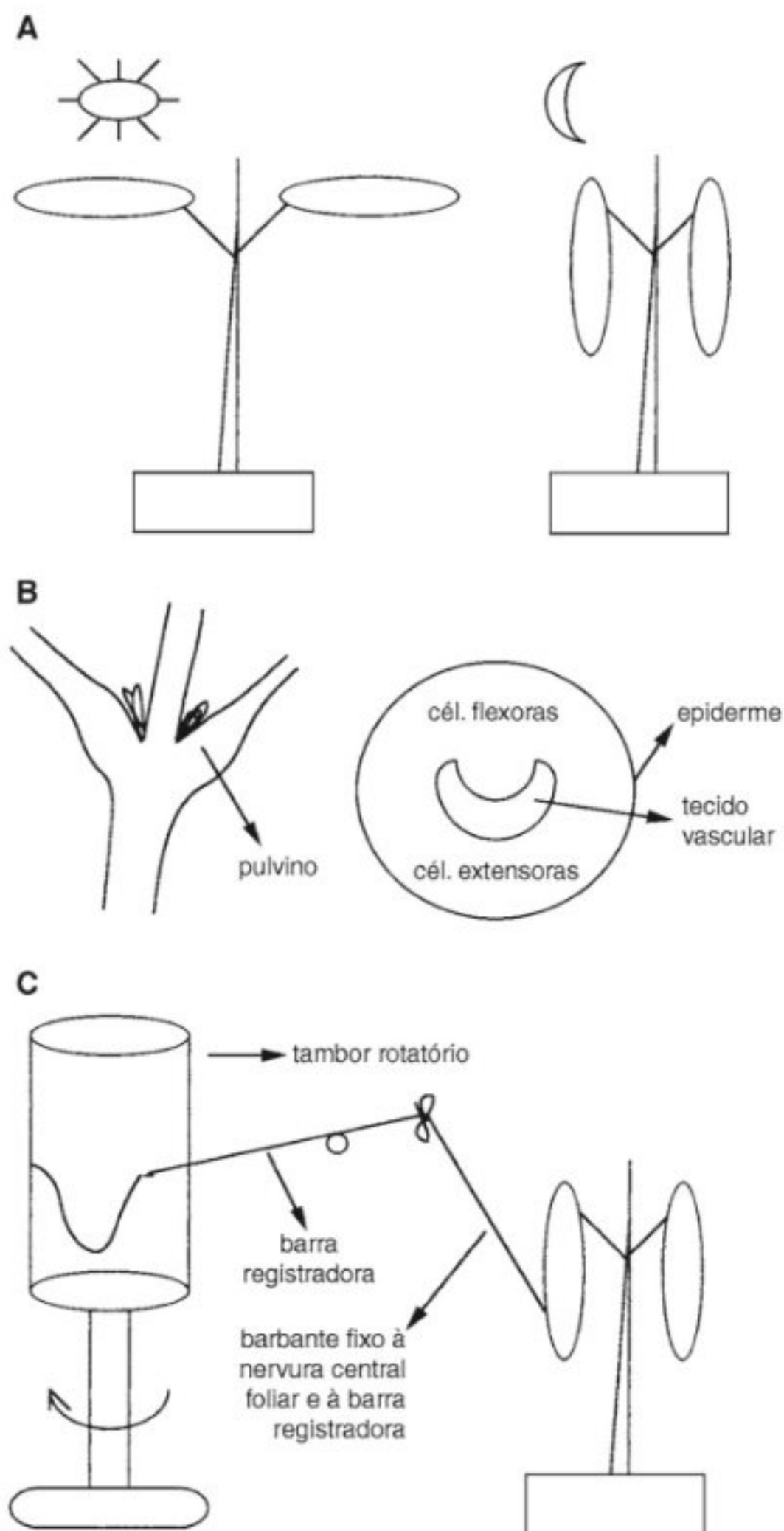
Hidronastismo em folha de gramínea. A. Posição dobrada (células buliformes murchas). B. Posição expandida (células buliformes túrgidas). C. Esquema de corte transversal de folha mostrando a posição das células buliformes com distribuição na epiderme adaxial ao longo do eixo central do órgão.

paredes celulares mais finas, as células buliformes. Essas células geralmente se localizam na epiderme adaxial (superior), onde se apresentam uniformemente distribuídas ou predominando ao longo do eixo central das folhas (Fig. 16.11).

Como as células buliformes possuem paredes pouco espessas e cutículas finas ou nenhuma cutícula, perdem água por transpiração mais rapidamente do que as outras células epidérmicas. À medida que a pressão de turgor diminui nas células buliformes, a manutenção da pressão de turgor nas células da face abaxial (inferior) da folha causa o enrolamento ou dobramento foliar (Fig. 16.11).

Nictinastismo (do grego *nyktos*, noite; *nastos*, fechamento)

É um dos nastismos mais bem estudados. Refere-se a folhas que assumem uma posição noturna diferente daquela apresentada durante o dia (movimentos de “sono”), em resposta à luz. Em geral, durante o dia, as folhas ou folíolos estão em posição horizontal ou “aberta” e, à noite, assumem uma posição próxima da vertical ou “fechada”. Esse fenômeno pode ser facilmente observado em algumas espécies com folhas compostas como *Leucaena leucocephala* (leucena), *Senna macranthera* (manduirana), *Albizia julibrissin* e *Samanea saman*. Estas duas últimas espécies têm sido modelos experimentais bastante estudados. Outro modelo experimental no estudo do nictinastismo muito familiar é *Phaseolus vulgaris* (feijoeiro), cujas folhas primárias exibem marcados movimentos de “sono” (Fig. 16.12A).

**FIGURA 16.12**

Nictinastismo em folhas primárias de feijoeiro. A. Posição foliar horizontal diurna e vertical noturna. B. Pulvinos na base dos pecíolos. Os pulvinos são os órgãos responsáveis pelo movimento foliar. Corte transversal esquemático de um pulvino foliar mostrando a localização das células motoras e do cilindro vascular. C. Cinógrafo: aparelho com tambor rotatório acoplado a um relógio mecânico para registro de movimentos foliares sob controle do relógio circadiano. Foi usado por Erwin Bünning, na Alemanha, nas décadas de 1920 e 30.

O significado adaptativo dos movimentos nictinásticos não é claro, mas pode estar relacionado a minimizar a percepção de eventuais estímulos luminosos noturnos (por exemplo, a luz refletida pela lua cheia), os quais podem perturbar a mensuração fotoperiódica do tempo necessário para florir. Há também a sugestão de que enquanto a posição foliar diurna maximiza exposição à luz, a posição noturna minimizaria perda de calor.

A observação e o estudo dos movimentos nictinásticos são bastante antigos, tendo eles sido registrados por Plínio na antiga

Grécia, Lineu e Darwin. Movimentos nictinásticos em condições constantes de luz e temperatura forneceram as primeiras evidências da existência de um relógio circadiano endógeno nos organismos, com os registros de De Mairan, Monceau e Candolle nos séculos XVII e XVIII. Os trabalhos clássicos de Bünning nas décadas de 1920 e 30 utilizaram movimentos nictinásticos de feijoeiro para estudar o relógio circadiano (Fig. 16.12C). O mecanismo básico desses movimentos, no entanto, só foi esclarecido principalmente na década de 1980, tendo sido reexaminado mais recentemente por diversos autores.

Todos os movimentos nictinásticos ocorrem em função de mudanças reversíveis de turgor nos *pulvinos* (Mayer & Hampp, 1995). Pulvinos são bases espessadas das folhas, geralmente cilíndricas na forma, com superfícies enrugadas e com grande quantidade de parênquima que, por variações de turgor em células de faces opostas (adaxial e abaxial), permitem dobramento e conseqüente movimento foliar (Fig. 16.12B). Em folhas compostas de Leguminosae, além do pulvino principal na base do pecíolo, há também pulvínulos ou pulvinos secundários na base dos folíolos. Os pulvinos apresentam tecido vascular central, com xilema e floema circundados por esclerênquima. O tecido vascular no pulvino assume arranjo compacto e linear, possivelmente aumentando a flexibilidade da região. Em volta do tecido vascular central está o parênquima, cujas células mais externas possuem paredes elásticas finas e são capazes de sofrer grandes alterações em forma e tamanho, permitindo o movimento foliar. Essas células são chamadas *células motoras*.

As células motoras são divididas em *flexoras* e *extensoras*. As células extensoras são aquelas que ganham turgor durante a abertura (posição diurna) e perdem turgor durante o fechamento das folhas (posição de "sono" ou noturna). As células flexoras perdem turgor durante a abertura e ganham turgor durante o fechamento das folhas. A posição adaxial ou abaxial de células flexoras e extensoras varia conforme as folhas; na posição noturna fechada (vertical), movem-se para cima (por exemplo, pulvinos secundários de *Cassia*) ou para baixo (por exemplo, pulvinos de feijoeiro). Neste último caso (folhas fecham movendo-se para baixo), as células flexoras são adaxiais (parte superior do pulvino), e as células extensoras, abaxiais (parte inferior do pulvino).

O modelo do mecanismo de ganho e perda de água pelas células motoras é semelhante ao das células-guarda nos estômatos. As células motoras aumentam de turgor quando prótons são bombeados para fora das células (apoplasto) por próton-ATPases, criando um gradiente de prótons e um desvio do potencial de membrana para valores mais negativos (hiperpolarização). Isso faz com que se abram canais de entrada de K^+ , pelos quais esse íon entra nas células. Influxo de Cl^- para compensação de carga também ocorre em função do gradiente de concentração de H^+ . Com a redução do potencial hídrico das células motoras em função do aumento de solutos osmoticamente ativos dentro delas, ocorre entrada de água e as células motoras tornam-se túrgidas. A perda de turgor pelas células motoras deve-se à liberação para o apoplasto de K^+ e Cl^- , com simultânea captação de H^+ . A abertura dos canais de extrusão de K^+ parece ser causada por captação de Ca^{++} e/ou extrusão de Cl^- , que promovem despolarização da membrana.

Os movimentos nictinásticos ocorrem em resposta a variações de luz e por influência do relógio circadiano. Como se dá o acoplamento desses estímulos ao movimento de íons e conseqüente mudança de turgor nas células motoras? Estudos com diferentes qualidades de luz indicam que os comprimentos de onda relevantes para o movimento nictinástico são aqueles na faixa do vermelho, vermelho extremo e azul. Isso sugere o envolvimento dos fotorreceptores fitocromo e/ou criptocromo no processo. É importante notar que o efeito da luz parece ser diferenciado em células flexoras e extensoras; por exemplo, a transição luz-escuro ativa a bomba de prótons e conseqüente captação de potássio em células flexoras (que devem ficar túrgidas para fechamento foliar noturno), enquanto a mesma transição inativa a bomba de prótons em células extensoras (que devem ficar flácidas para fechamento foliar noturno). Por outro lado, em pulvinos inteiros de *Samanea*, foi demonstrado que um breve pulso de luz branca causa um aumento na concentração de inositol fosfato, que é acompanhado de um decréscimo em fosfatidil inositol. Esses dados, em conjunto com outras observações oriundas de cascatas de sinalização em células animais e de investigações sobre mecanismo estomático, levaram à proposição do modelo descrito a seguir e esquematizado na Fig. 16.13.

A luz seria percebida por fitocromo e criptocromo. A absorção de luz pelo cromóforo causaria uma mudança conformacional na apoproteína do fotorreceptor, a qual interagiria possivelmente com proteínas G (proteínas ligadoras de GTP). As proteínas G ativadas estimulariam a ação de fosfolipase C, enzima que degrada fosfatidil inositol bifosfato (PIP₂), gerando inositol trifosfato (IP₃)

e diacilglicerol (DAG). DAG poderia aumentar a atividade de proteínas cinases, as quais, por fosforilação (que geralmente gera mudanças conformacionais), modulariam a atividade de canais iônicos ou da próton-ATPase. IP₃ poderia também atuar como agente modulador dos canais iônicos ou da bomba de prótons, promovendo a liberação de cálcio do vacúolo para o citossol. O efeito do relógio circadiano no movimento nictinástico dá-se provavelmente como regulador da capacidade de percepção da luz pelos fotorreceptores, controlando quando é ou não permitido perceber a luz com eficiência máxima (ver Cap. 17, Ritmos Circadianos nas Plantas, para maiores detalhes). Outra forma de controle do relógio circadiano no movimento nictinástico parece ser a expressão circadiana e regulada por luz dos genes codificadores de canais de potássio em células dos pulvinos (Moshelion *et al.*, 2002).

A anatomia de pulvinos de nove espécies de leguminosas de cerrado, as quais apresentam movimentos násticos que foram classificados como rápidos ou lentos, foi examinada (Rodrigues & Machado, 2007). A presença de uma endoderme delimitada nestas estruturas apresentou diferentes características em plantas com estes dois tipos de respostas násticas. Embora em todas as espécies tenham sido observados grãos de amido nesta região dos pulvinos, somente nas espécies de movimentos lentos os pulvinos apresentaram cristais de oxalato de cálcio.

Tigmonastismo

É um movimento nástico em resposta a estímulos mecânicos. Alguns textos também se referem a esse movimento como *sismo-*

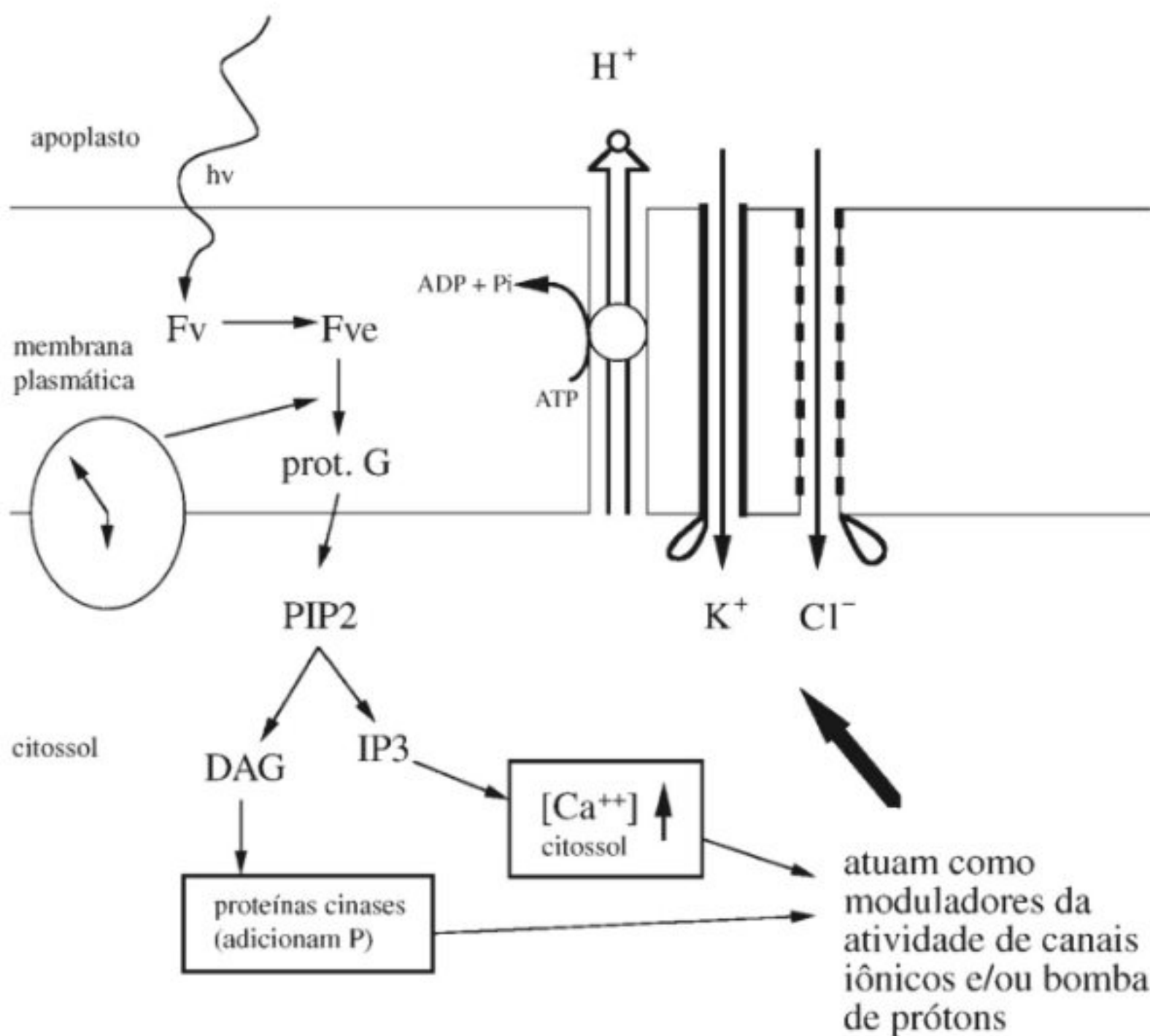


FIGURA 16.13

Modelo do mecanismo de movimento nictinástico foliar: ganho de água pelas células motoras dos pulvinos. Sinais luminosos seriam percebidos pelos sistemas de pigmentos fitocromo e/ou criptocromo. O relógio circadiano controlaria a eficiência máxima de percepção de luz pelos sistemas fotorreceptores. Além disso, luz e relógio circadiano controlariam a expressão de genes codificadores de canais de potássio. Uma cascata de transdução luminosa, envolvendo proteínas G e metabolismo de fosfatidil inositol, resultaria em ativação de proteínas cinases e aumento na concentração citossólica de cálcio. Esses dois fatores, por sua vez, modulariam a atividade de bombas e canais iônicos, causando movimento de água e alteração de turgor.

nastismo. É bastante evidente em algumas espécies de Leguminosae – Mimosoideae, muitas das quais também apresentam nictinastismo. O exemplo mais conhecido é o da espécie tropical *Mimosa pudica*, a planta sensitiva ou dormideira. Mediante estímulo de toque, agitação, estímulos elétricos ou extremos de temperatura, folhas e folíolos rapidamente se fecham. Uma peculiaridade importante desse caso é a rapidez de resposta e a capacidade de transmissão do estímulo através da planta. Mesmo quando apenas um folíolo é estimulado, ocorre o fechamento de folíolos não estimulados diretamente. Outra peculiaridade interessante é que o fechamento das folhas parece ser uma resposta de “tudo-ou-nada”, ou seja, não há uma relação óbvia entre intensidade do estímulo e a eficácia da resposta. O significado adaptativo desse tipo de resposta não é bem conhecido, mas sugere-se que o movimento das folhas espante insetos herbívoros. Outra proposição é que o fechamento das folhas, em resposta a ventos de regiões áridas onde muitas dessas plantas habitam, evite perda excessiva de água.

O mecanismo de dobramento das folhas envolve perda de água de células motoras nos pulvinos devido à saída de potássio, à semelhança do que foi mencionado em nictinastismo. A capacidade de transmissão do estímulo tigmonástico em *M. pudica* tem sido bastante investigada. Dois mecanismos têm sido propostos para explicar o fenômeno: um elétrico e outro químico.

O mecanismo elétrico evoca a constatação da existência de um *potencial de ação* (isto é, uma modificação na voltagem ou diferença de potencial elétrico em função do tempo) na planta de *M. pudica* estimulada. De fato, está bem estabelecido que, praticamente, qualquer parte da planta em questão pode perceber estímulos e transmiti-los sob forma de pulsos elétricos aos pulvinos. Os potenciais de ação de *M. pudica* são semelhantes aos que ocorrem em células nervosas animais, porém muito mais lentos (velocidades de cerca de $2 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, enquanto, em células nervosas, os potenciais de ação propagam-se a dezenas de metros por segundo). Em plantas os tubos de elemento crivado e parênquima vascular (células de parênquima conectadas por plasmodesmas) parecem funcionar como condutos de transmissão do sinal. O aparecimento do potencial de ação está correlacionado com rápida captação de prótons pelas células, sugerindo que eles sejam responsáveis pela despolarização das membranas. Acredita-se que quando o potencial de ação atinge os pulvinos há rápida liberação de potássio e açúcares no apoplasto, causando perda de água pelas células motoras e conseqüente curvamento das folhas.

O mecanismo químico da resposta tigmonástica de *Mimosa pudica* e de outras poucas espécies desse gênero é importante para a transmissão do potencial de ação de um folíolo a outro. As primeiras evidências para a existência de um componente químico na resposta tigmonástica foram obtidas por Ubaldo Ricca, no início do século XX. Ricca demonstrou que um caule cortado e reconectado por um tubo fino de vidro com água permitia a transmissão da resposta tigmonástica a folíolos localizados no lado oposto do tubo. As substâncias responsáveis pela transmissão são hoje conhecidas como turgorinas e são capazes

de causar respostas elétricas que viajam na sua frente, de um folíolo a outro, em células de parênquima. Turgorinas foram isoladas de diversas plantas que exibem movimentos nictinásticos e tigmonásticos, e sua atividade é testada em bioensaios com folhas de *M. pudica* mantidas em solução. As turgorinas extraídas de diversas plantas e purificadas revelaram ser glicosídeos de compostos fenólicos, principalmente de ácido gálico. As turgorinas mais ativas são o β -D-glicosídeo-6-sulfato de ácido gálico e o β -D-glicosídeo-3,6-dissulfato de ácido gálico. Foi sugerido que as turgorinas apresentam algumas características de fitormônios que atuariam como controladores do turgor de células motoras dos pulvinos. As turgorinas são ativas em concentrações bastante baixas (10^{-5} a 10^{-7} M), podem ser translocadas (pelo menos em alguns casos) e existem possíveis proteínas receptoras desses compostos (por exemplo, na face externa da plasmalema de *M. pudica*). Alguns autores sugerem uma analogia das turgorinas com o neurotransmissor acetilcolina, pois ambos os compostos geram potenciais de ação. A atividade de turgorinas poderia ser controlada por hidrólise da metade glicosídica, pois os produtos resultantes são inativos no bioteste.

As plantas carnívoras dos gêneros *Drosera* e *Dionaea* (família Droseraceae) representam exemplos de movimentos em resposta a estímulos mecânicos usados na captura de insetos e outros pequenos artrópodos para suplementação de nutrientes como nitrogênio e fósforo. No caso de *Drosera*, as folhas têm numerosos pêlos glandulares multicelulares, nas extremidades dos quais é secretado um líquido viscoso com enzimas digestivas. O toque e a movimentação de um inseto na extremidade dos pêlos, por exemplo, causam uma série de potenciais de ação que se propagam ao longo destes e, ao atingirem as células da base, causam o dobramento dos pêlos. Os pêlos da parte periférica da folha tendem a dobrar-se para o centro dela, carreando o inseto para o meio da folha. Uma vez preso, o inseto é digerido e absorvido ao longo de vários dias. Em *Dionaea*, a folha é modificada em uma estrutura bilobada, com lobos unidos pela veia central e munida de excrescências semelhantes a espinhos ao longo das bordas. Quando pêlos epidérmicos sensoriais são estimulados, os lobos foliares se fecham rapidamente (em cerca de meio segundo), prendendo o inseto. Se há movimento adicional, os lobos foliares se aproximam ainda mais, e o inseto passa a ser digerido por enzimas secretadas pela folha. Após cerca de duas semanas, a folha reabre. A estimulação mecânica dos pêlos sensoriais é seguida do aparecimento de potenciais de ação que se propagam entre as células dos lobos foliares. Alguns autores sugerem que os potenciais de ação gerados pelo estímulo dos pêlos sensoriais no lado superior (interno) das folhas induzem um bombeamento ativo de prótons para o apoplasto do lado inferior (externo) delas. Esse acúmulo de prótons rapidamente causaria flacidez de paredes celulares, captação de água apoplástica e expansão do lado externo da folha, induzindo fechamento. A reabertura gradual ocorreria à medida que o crescimento da superfície interna superasse o crescimento da superfície externa durante o fechamento.

REFERÊNCIAS

- Blakeslee JJ, Bandyopadhyay A, Peer WA, Makam SN, Murphy A. Relocalization of the PIN1 auxin efflux facilitator plays a role in phototropic responses. *Plant Physiology*, 2004; 134:28-31.
- Caldas LS, Luttge U, Franco AC, Haridasan M. Leaf heliotropism in *Pterodon pubescens*, a woody legume from the Brazilian cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 1997; 9(1):1-7.
- Christie JM. Phototropin blue-light receptors. *Annual Review of Plant Biology*, 2007; 58:21-45.
- Engelberth J. Mechanosensing and signal transduction in tendrils. *Advances in Space Research*, 2003; 32:1611-1619.
- Mayer WE, Hampp R. Movement of pulvinated leaves. *Progress in Botany*, 1995; 56:237-262.
- Moshelion M, Becker D, Czempinski K, Mueller-Roeber B, Attali B, Hedrich R, Moran N. Diurnal and circadian regulation of putative potassium channels in a leaf moving organ. *Plant Physiology*, 2002; 128:634-642.
- Rodrigues TM, Machado SR. The pulvinus endodermal cells and their relation to leaf movement in legumes of the Brazilian cerrado. *Plant Biology*, 2007; 9:469-477.
- Stoelzle S, Kagawa T, Wada M, Hedrich R, Dietrich P. Blue light activates calcium-permeable channels in *Arabidopsis* mesophyll cells via the phototropin signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2003; 100:1456-1461.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Christie JM. Phototropin blue-light receptors. *Annual Review of Plant Biology*, 2007; 58:21-45.
- Eapen D, Barroso ML, Ponce G, Campos ME, Cassab GI. Hydrotropism: root growth responses to water. *Trends in Plant Science*, 2005; 10:44-50.
- Friml J. Auxin Transport – Shaping the Plant. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003; 6:7-12.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. New York, John Wiley & Sons, 1995, 464p.
- Rosen E, Chen R, Masson PH. Root gravitropism: a complex response to a simple stimulus? *Trends in Plant Science*, 1999; 4:407-412.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*, 3rd ed. Sunderland, Sinauer, 2002, 690p.
- Takada N, Kato E, Yamamura S, Ueda M. A novel leaf-movement inhibitor of a nyctinastic weed, *Sesbania exaltata* Cory, designed on a naturally occurring leaf-opening substance and its application to a potential, highly sensitive herbicide. *Tetrahedron Letters*, 2002; 43:7655-7658.
- Yamamoto KT. Happy end in sight after 70 years of controversy. *Trends in Plant Science*, 2003; 8:359-360.
- Interessante site da Internet (2007), organizado pelo Dr. Roger P. Hangarter, sobre movimento em plantas, com diversas filmagens apresentadas em alta velocidade de movimentos vegetais: <http://plantsinmotion.bio.indiana.edu/>

Ritmos Circadianos nas Plantas

Arthur Germano Fett-Neto

Desde o início da história da vida na Terra, um dos fatores ambientais mais constantes tem sido a sucessão de dias e noites em ciclos de 24 horas. Praticamente, todos os organismos (de cianobactérias a humanos) exibem um ou mais ritmos circadianos, ou seja, oscilações biológicas endógenas com um período de aproximadamente 24 horas (*circa* = cerca, *dies* = dia). A persistência desses ritmos sob condições ambientais constantes demonstra controle por um relógio circadiano endógeno. Para a maioria dos organismos, o amanhecer significa alimento, seja por fixação de carbono ou por disponibilidade de presas. O aparecimento do Sol também implica diversas alterações de variáveis geofísicas, como luz, temperatura, vento etc. Os organismos contam o tempo com o relógio endógeno sincronizado por sinais externos, como as variações ambientais, principalmente as de luz e temperatura.

Dada a pressão evolutiva geral e antiga das seqüências de dias e noites, é provável que relógios circadianos evoluíram cedo na história da vida na Terra, e, segundo várias evidências, elementos comuns ao mecanismo fundamental do relógio circadiano parecem ocorrer em organismos evolutivamente distantes, como fungos e mamíferos. A regulação de funções biológicas pelo relógio circadiano tem a finalidade de otimizar processos celulares e fisiológicos em antecipação a modificações periódicas no ambiente de um organismo. Essa regulação das funções biológicas no tempo e a capacidade de antecipação são especialmente importantes em plantas, pois, como organismos sésseis, as plantas precisam responder eficazmente às diversas pressões ambientais a que estão sujeitas; a troca de ambiente não é uma opção como no caso de animais.

De fato, as plantas são organismos essencialmente rítmicos. Dentre os processos fisiológicos e metabólicos que estão sujeitos a ritmos circadianos, podem-se citar: movimentos foliares e de pétalas (nictinastismo e termonastismo), fotossíntese, respi-

ração, taxa de crescimento, movimento estomático, fixação de CO₂ em plantas MAC (metabolismo ácido das crassuláceas), exsudação radicular, floração, atividade de diversas enzimas, fluxos iônicos, concentração de cálcio citossólico, expressão de genes controlados pelo relógio ou genes circadianos (incluindo diversos genes envolvidos ou não na fotossíntese ou respiração). Um exemplo de como a antecipação metabólica e fisiológica conferida pelo relógio circadiano é vantajosa corresponde ao fenômeno da abertura de estômatos e transcrição de diversos genes fotossintéticos (cuja expressão é promovida por luz) algumas horas antes do amanhecer, ainda no escuro. Essa resposta, causada pelo relógio circadiano, tem a vantagem de propiciar pronta assimilação de carbono quando a luz se faz disponível. Dessa forma, as primeiras horas da manhã, nas quais a demanda transpiratória é menor, são aproveitadas da forma mais eficiente para fotossíntese.

TERMINOLOGIA E CARACTERÍSTICAS DE RITMOS CIRCADIANOS

Ao se estudarem ritmos circadianos, é preciso familiarizar-se com os termos usados para descrever e caracterizar tais ritmos. Ritmos circadianos são de natureza endógena, ou seja, persistem por vários ciclos sob condições constantes (geralmente de luz ou escuro contínuos). A ritmicidade expressa sob essas condições é dita *de curso livre* e apresenta um período de *aproximadamente, mas não exatamente*, 24 horas. O desvio do período de curso livre de exatamente 24 horas é considerado uma evidência de que o ritmo biológico está sob o controle de um sistema endógeno de medição de tempo, o qual necessita ser ajustado por fatores ambientais para sincronizar-se com o tempo solar. *Período* é o

tempo necessário para completar um ciclo e é geralmente descrito como o tempo de um pico (de atividade enzimática, por exemplo) a outro, embora o período possa ser determinado com quaisquer dois pontos equivalentes em ciclos repetidos. O período define o tipo de ritmo que se estuda. A duração do período permite classificar o ritmo em circadiano, ultradiano (significativamente menores do que 24 horas ou com mais de um ciclo a cada 24 horas), infradiano (significativamente maiores do que 24 horas ou com menos de um ciclo a cada 24 horas), sazonal, anual etc. *Amplitude* é a diferença entre máximo e mínimo (pico e vale de atividade). Em condições constantes, a amplitude do ritmo de curso livre geralmente diminui progressivamente até desaparecer. Esse fenômeno é conhecido como *damping* na literatura inglesa (*amortecimento*) e pode ser minimizado se, após alguns ciclos em condições constantes, o sinal externo que sincroniza o ritmo for dado por um ou dois ciclos, retornando-se a seguir às condições constantes. *Fase* corresponde a qualquer ponto no ciclo que pode ser identificado por sua relação com o resto do ciclo. Por exemplo, a posição dos picos é geralmente usada para relações de fase. Diz-se, então, que os ritmos estão *em fase* quando os picos se sobrepõem, ou estão tantas unidades de tempo *fora de fase* quando os picos não coincidem. Usam-se também os termos fase diurna e fase noturna. Avanços ou retardos de fase (desvios de fase em relação ao ritmo inicial ou controle) podem ser causados por estímulos ambientais, e a intensidade (número de horas de desvio da posição dos picos antes do estímulo) e direção (avanço ou retardo) de seu efeito serão dependentes do tempo circadiano de aplicação do estímulo.

Tempo circadiano refere-se ao ciclo de curso livre, ou seja, período de exposição a condições constantes. O tempo circadiano zero (TC 0) corresponde ao momento do último estímulo ambiental antes da entrada nas condições constantes, por exemplo, a última transição escuro-luz antes de entrar em luz constante. A partir daí, conta-se o tempo circadiano na unidade de tempo usual, geralmente horas, TC 12, TC 24, TC 48 etc. Os estímulos ambientais capazes de impor seu período ao ritmo endógeno (sincronizadores externos) são chamados *zeitgebers*, do alemão “aquele que dá ou impõe o tempo”. Estes são geralmente transições de luz e, em alguns casos, de temperatura.

A fase do ciclo de curso livre (condições constantes) que corresponderia ao dia em um ambiente normal de luz-escuro é chamada de *dia subjetivo*, e a fase que corresponderia à noite é chamada *noite subjetiva*. Normalmente, os ritmos circadianos, como, por exemplo, os movimentos nictinásticos das folhas do feijoeiro, estão sincronizados ou acoplados ao ciclo solar de dias e noites. Essa sincronização dos ritmos circadianos aos fatores ambientais é chamada de *entrainment* ou *ajuste* e é dada por sinais *zeitgebers*, conforme já descrito. A Fig. 17.1 ilustra alguns desses conceitos.

O fenômeno da *compensação de temperatura* é outro aspecto importante no estudo de relógios circadianos. Esse termo refere-se ao fato de que o período dos ritmos circadianos geralmente não é afetado de modo significativo por reduções ou aumentos de temperatura (na faixa fisiológica de temperatura). A amplitude dos ritmos é mais afetada por temperatura, mas não o período.

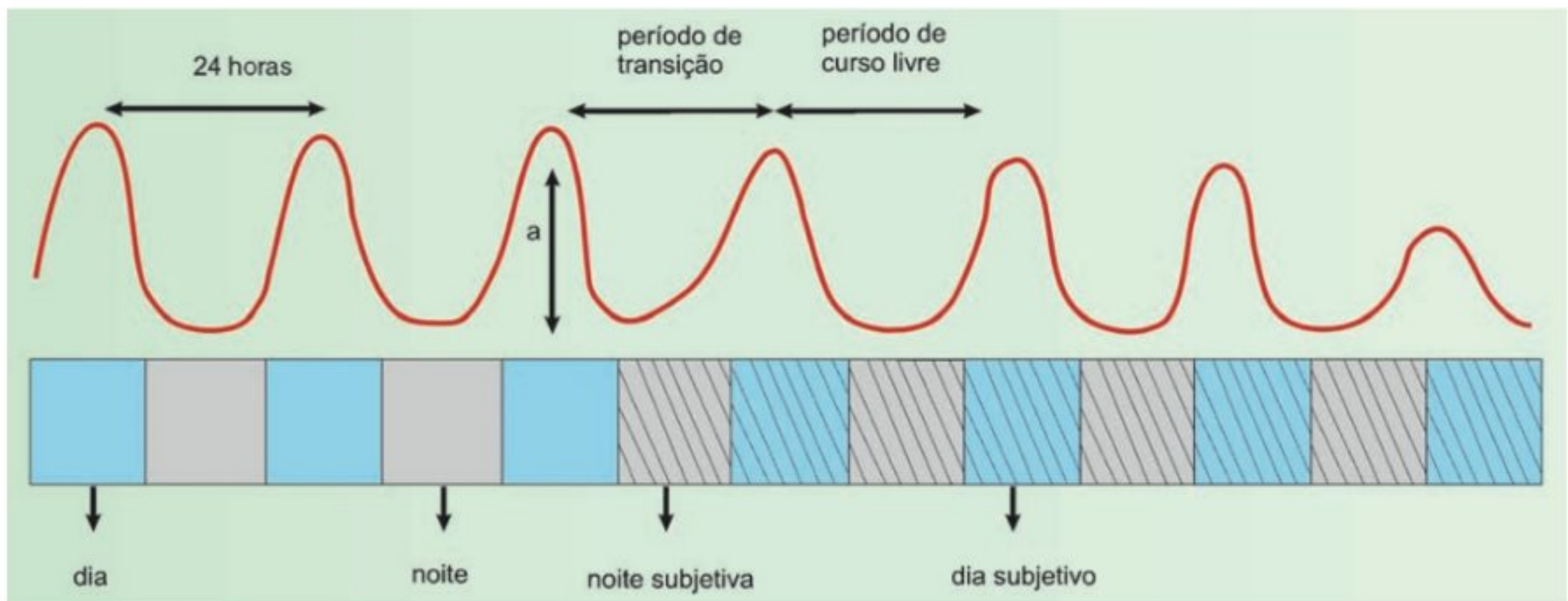


FIGURA 17.1

Diagrama de um ritmo circadiano típico. Os picos representam máximos de atividade de um fenômeno circadiano (por exemplo, atividade enzimática), e os vales, mínimos de atividade. Os primeiros dois ciclos de 24 horas correspondem a condições de dia e noite. Os demais ciclos ocorrem em condições contínuas (curso livre). O período do primeiro ciclo em condições constantes é chamado período de transição. O período de curso livre é próximo, mas não exatamente de 24 horas. Noites e dias subjetivos indicam a posição de dias e noites caso as condições permanecessem em alternância de períodos de luz e escuro. A letra “a” corresponde à amplitude. Após alguns ciclos em condições constantes, é comum a redução de amplitude (*damping*).

COMPONENTES E BASE MOLECULAR DO RELÓGIO CIRCADIANO

O relógio circadiano generalizado compõe-se de três partes: (1) rotas de transdução de sinais ambientais (*input* ou entrada de sinais ambientais para o gerador de ritmo); (2) gerador de ritmo (oscilador ou mecanismo do relógio); e (3) rotas de transdução de sinais internos (*output* ou saída de sinais do gerador de ritmo para processos circadianos da célula). Os relógios circadianos mais bem conhecidos são os da mosca *Drosophila melanogaster* e do fungo *Neurospora crassa*, modelos mais antigos no estudo de relógios circadianos. Em plantas, a espécie mais conhecida em termos de funcionamento do relógio circadiano é *Arabidopsis thaliana* (Fig. 17.2).

As rotas de transdução de sinais ambientais ajustam a atividade do gerador de ritmo endógeno e determinam a fase do ritmo de curso livre. Os sinais ambientais são geralmente transições luz–escuro/escuro–luz e mudanças de temperatura. Em plantas,

dois tipos de fotorreceptores estão envolvidos na mediação de sinais ambientais luminosos que ajustam o relógio circadiano: fitocromo e criptocromo (um dos receptores de luz azul) (ver Tabela 17.1 para resumo de suas características).

Por meio das rotas de transdução, os sinais ambientais afetam a transcrição dos genes que constituem o gerador de ritmo. No caso da percepção de luz pelo sistema fitocromo, diversos mensageiros secundários envolvidos na transdução da informação ambiental do fotorreceptor já foram identificados, e incluem proteínas G, GMPc (guanosina monofosfato cíclico), canais de cálcio e Ca-calmodulina. Sabe-se também que alguns membros da família dos fitocromos, como, por exemplo, o fitocromo B (PHYB), são capazes de entrar no núcleo da célula e ligar-se reversivelmente (dependendo da forma em que se encontram, vermelha – P660 ou vermelha extrema – P730) aos fatores de transcrição PIFs (do inglês *phytochrome interacting factors*, ou fatores de interação com fitocromo) posicionados nos promotores (seqüências nucleotídicas regulatórias) de genes que inibem a fotomorfogênese

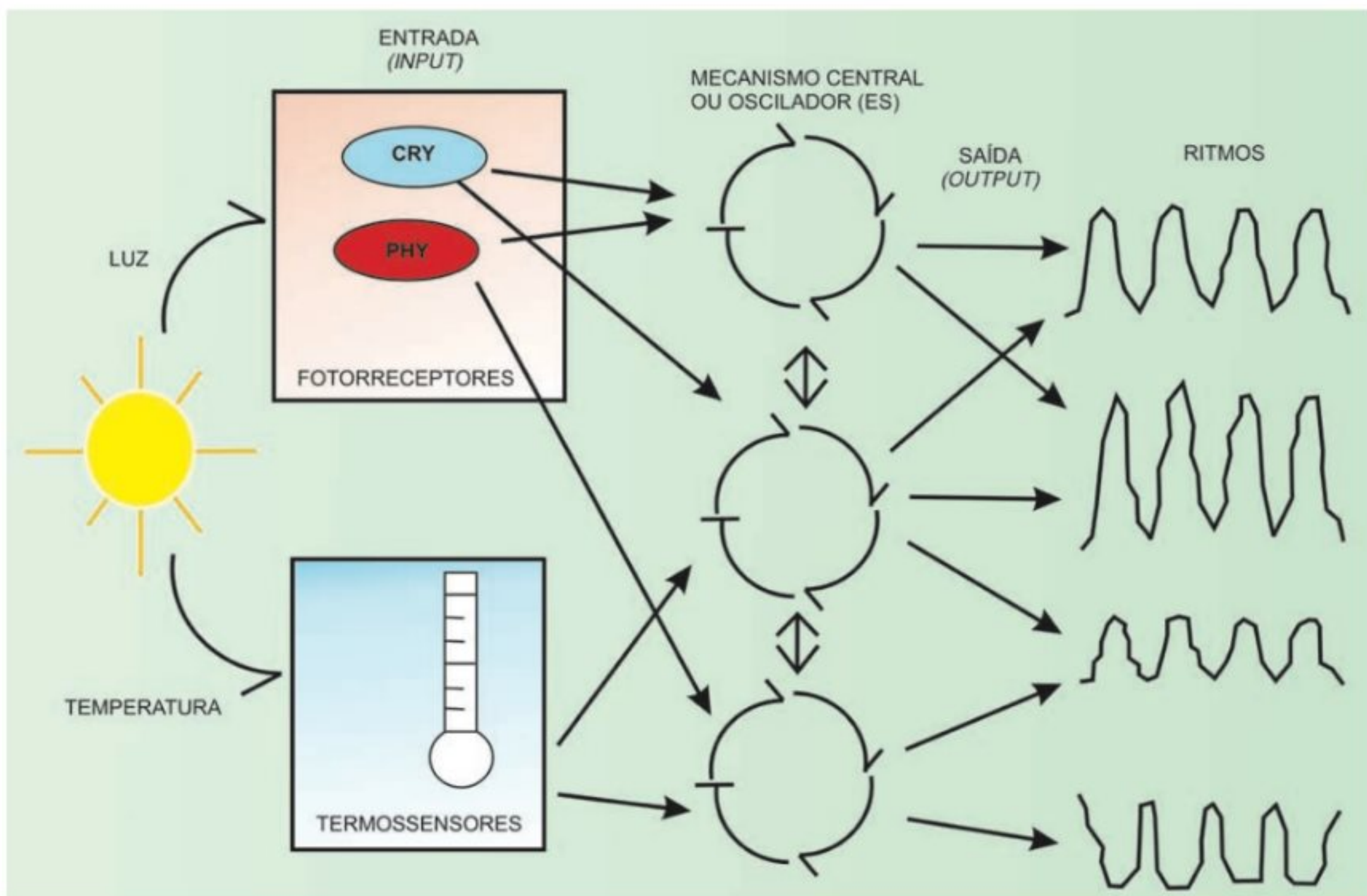


FIGURA 17.2

Componentes básicos do relógio circadiano: vias de entrada, mecanismo central e vias de saída. Os sinais sincronizadores principais são luz (percebida pelos fotorreceptores fitocromo e criptocromo) e temperatura. Os receptores sinalizam ao mecanismo central constituído por proteínas do tipo fatores de transcrição (capazes de ligar em DNA). Esse mecanismo central pode envolver uma ou mais proteínas, que podem interagir. Cada componente do mecanismo central é capaz de auto-regular sua transcrição (barras nos círculos). O tempo bioquímico resultante do conjunto de auto-regulações e interações entre componentes centrais do relógio é de cerca de 24 horas. Esse ritmo é impingido a vários genes expressos de forma circadiana, mediante ação das proteínas centrais como fatores de transcrição. O período, a fase de maior atividade e a amplitude dos ritmos poderiam variar com o caminho seguido entre entrada, oscilador e saída, dentre os vários possíveis esquematizados. (Esquema baseado em McClung, 2001.)

TABELA 17.1
Características importantes dos fotorreceptores que ajustam o relógio circadiano

- Fitocromo é uma cromoproteína solúvel. O cromóforo (responsável pela absorção de luz) é um tetrapirrol aberto. Alterações causadas pela absorção de luz no cromóforo são transmitidas à apoproteína ligante.
- A proteína do fitocromo é codificada por uma família gênica de 5 membros em *Arabidopsis* (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* e *PHYE*). Diferentes eventos de fototransdução podem ser mediados por diferentes tipos de fitocromo, por exemplo, dependendo das características do ambiente (proporção verm./verm. extremo). As diferenças entre os fitocromos parecem residir na porção N-terminal, parte sensorial onde se liga o cromóforo. O C-terminal é responsável pela ação do fitocromo.
- Todos os tipos de fitocromo existem em duas formas: Fv (absorve no vermelho, 660 nm) e Fve (absorve no vermelho extremo, 730 nm). A forma sintetizada em plantas estioladas é Fv, que é mais estável. As formas são interconvertíveis (ver Fig. 17.3), e a versão considerada ativa é o Fve.
- Um dos mecanismos de ação do fitocromo B envolve entrada no núcleo da célula e interação com proteínas ligadoras de DNA (p. ex., PIF3, *phytochrome interacting factor 3* ou fator de interação com fitocromo 3), permitindo sua fosforilação e proteólise, reduzindo assim a expressão de genes promotores de escotomorfogênese (induzidos por PIFs) e liberando a transcrição de genes responsivos à luz.
- O criptocromo é também uma cromoproteína, mas possui 2 cromóforos derivados da flavina por molécula. É relacionado às fotoliasas (enzimas de fotoreparo de DNA em bactérias) e absorve na faixa do azul e UVA. Ocorre em animais, incluindo humanos. Em plantas é caracterizado por um longo C-terminal.
- Assim como o fitocromo, criptocromo irradiado com luz de cor adequada também é capaz de movimentar-se para dentro do núcleo celular e interagir com outras proteínas. Sabe-se que o criptocromo liga-se ao fator de repressão da fotomorfogênese (COP1, *constitutively photomorphogenic* ou constitutivamente fotomorfogênico, que, quando mutado, faz com que as plantas cresçam no escuro como se estivessem na luz), Quando no escuro, COP1 impede a ação de fatores de transcrição positivos de genes responsivos à luz, tais como Hy5, rotulando-os à degradação por ubiquitinação e proteólise. Sob luz azul, uma alteração conformacional, possivelmente envolvendo fosforilação no criptocromo, reduz a concentração de COP1 no núcleo e desfaz a interação de COP1 com Hy5, inibindo a degradação deste último, o qual fica livre para ativar genes de resposta à luz (Wang *et al.*, 2001; Liscum *et al.*, 2003; Jiao *et al.*, 2007).

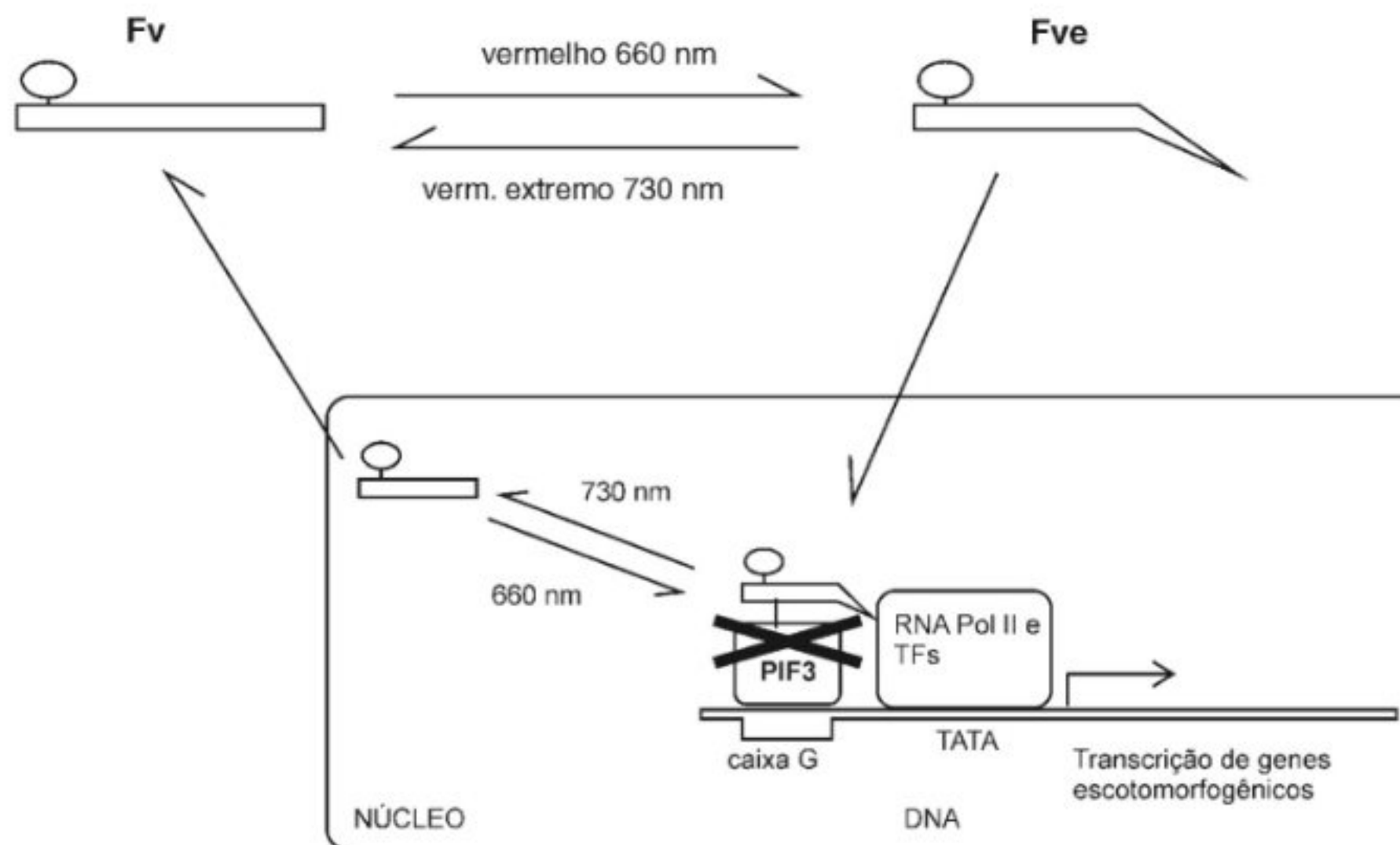
(p. ex., *rga* e *gai*, os quais impedem a germinação no escuro). Na presença de luz vermelha, o fitocromo vermelho extremo formado, possivelmente por meio de fosforilação e acionamento de proteólise seletiva de PIFs (via ciclo da ubiquitina-proteasomo), causa a inibição da transcrição dos RNA-mensageiros de genes inibidores de fotomorfogênese (*i.e.* indutores de escotomorfogênese), resultando na conseqüente expressão de genes ativados por luz. Portanto, a luz regula negativamente a função de PIFs via fitocromos, ao menos na promoção da fotomorfogênese (Martínez-García *et al.*, 2000; Huq, 2006; Castillon *et al.*, 2007). Mecanismos desta natureza também parecem ocorrer na sinalização luminosa ao relógio circadiano. Nas suas etapas finais, as rotas de transdução de sinais ambientais parecem afetar a transcrição de genes do gerador de ritmo (Fig. 17.3).

O fitocromo B (*PHYB*) parece ser crítico na determinação da fase circadiana (período do dia de maior atividade de um ritmo circadiano) mediada por luz branca. O mutante *oop1* (“*out of phase*” ou fora de fase) de *Arabidopsis*, dotado de defeito no gene de *PHYB*, apresenta um pico de maior atividade para vários ritmos circadianos mais cedo do que o tipo selvagem, mas sem alteração significativa de período dos ritmos (tempo entre dois picos máximos de atividade) (Salomé *et al.*, 2002). Em *Neurospora*, a luz interage com o relógio circadiano em nível de transcrição do gene *frq* (“*frequency*” ou frequência, parte do gerador de ritmo nesse organismo), promovendo o processo. Em *Drosophila*, em que vários genes que tomam parte no gerador de ritmo já

foram clonados, a luz parece ajustar o gerador de ritmo regulando o transporte da proteína do relógio do citossol para o núcleo. Isso se dá pela degradação estimulada por luz da proteína TIMELESS, a qual necessita interagir fisicamente com a proteína PERIOD para que esta última entre no núcleo, onde afetará fatores de transcrição de genes que são expressos de forma circadiana.

O gerador de ritmo é o mecanismo central do relógio circadiano. O modelo mais simples para o mecanismo do relógio circadiano é um sistema de retroalimentação (*feedback*) negativa de proteínas capazes de auto-regular sua produção. Em outras palavras, o mecanismo do relógio envolve a transcrição no núcleo, processamento do RNA-mensageiro, tradução no citossol, modificação pós-tradução (por exemplo, fosforilação) e transporte para o núcleo de proteínas do relógio que auto-regulam negativamente sua própria produção. É necessário um tempo de execução dos eventos bioquímicos mencionados de tal forma que seja gerada uma periodicidade auto-sustentada de cerca de 24 horas. As proteínas do relógio afetariam, por exemplo, a expressão de genes controlados pelo relógio circadiano ou proteínas envolvidas no transporte de íons, imprimindo a estes o ritmo gerado.

As rotas de transdução de sinais internos (*output*) ou saída de sinais do gerador de ritmo para processos circadianos da célula transferem o ritmo gerado pelo mecanismo do relógio para diversos processos biológicos circadianos, incluindo a expressão de diversos genes, movimento de íons, movimentos nictinásticos, abertura estomática, atividade de enzimas etc. Nessas rotas de



Inibição da função de PIF3 via Fve (acionando sua fosforilação e proteólise) ativa genes fotomorfogênicos

FIGURA 17.3

Um dos mecanismos propostos de ação do fitocromo B na ativação da expressão de genes regulados por luz, incluindo prováveis componentes do mecanismo central do relógio circadiano. Molécula extremamente versátil, o fitocromo pode, após assumir configuração ativa por irradiação com luz vermelha, entrar no núcleo da célula e interagir com fatores de transcrição do tipo PIF3 (ativadores de genes escotomorfogênicos, ou seja, inibidores de fotomorfogênese) nos promotores, acionando sua degradação (proteólise) e, assim, permitindo a ativação de genes responsivos à luz pelo complexo básico de transcrição da RNA-polimerase II. A interação com PIF3 é reversível por irradiação com vermelho extremo. Desse modo, fitocromos poderiam atuar como componentes integrais de complexos reguladores de transcrição gênica regulados por luz, permitindo a percepção contínua e imediata de alterações em sinais luminosos diretamente no núcleo. (Modificada de Martínez-García *et al.*, 2000; Huq, 2006; Jiao *et al.*, 2007).

transdução da informação do gerador de ritmo para os processos circadianos, o cálcio parece desempenhar um papel central como mensageiro secundário. Diversos fenômenos circadianos em plantas são regulados por cálcio, incluindo a atividade de diversas cinases de proteínas (que podem alterar a atividade de fatores de transcrição responsáveis pela expressão de diversos genes circadianos) e processos circadianos dependentes de canais de potássio ativados por cálcio, como movimentos foliares e abertura estomática. Estudos não invasivos *in vivo* com plantas transgênicas de *Arabidopsis* e tabaco, expressando a proteína luminescente sensível a cálcio, a apoaquorina, cujo grau de luminescência varia com a concentração de cálcio, revelaram oscilações circadianas na concentração de cálcio citossólico e cloroplástico (Johnson *et al.*, 1995). Tais oscilações geradas pelo mecanismo central do relógio parecem controlar diversas enzimas e processos circadianos. A Fig. 17.4 esquematiza um modelo geral do relógio circadiano em plantas. Na realidade, acredita-se que componentes do mecanismo central do relógio, dotados das características de auto-regulação esboçadas, poderiam interagir entre si (em nível de controle transcricional mútuo ou interação física proteína-proteína) para gerar o ritmo circadiano central e impô-lo a genes controlados de modo circadiano (ver esquema do mecanismo central de *Arabidopsis thaliana* descrito no final da seção).

A expressão de genes de plantas controlados pelo relógio circadiano está amplamente documentada. A regulação de

genes controlados pelo relógio circadiano em plantas tem sido demonstrada em nível de transcrição, tradução e modificação pós-tradução. Para vários genes cuja expressão é circadiana, foram identificadas seqüências regulatórias de DNA nos promotores responsáveis por mediar sinais do gerador de ritmo do relógio circadiano (seqüências nucleotídicas específicas ou fatores *cis*). Além disso, também foram identificados fatores de transcrição (proteínas ligadoras de DNA ou fatores *trans*) capazes de promover a transcrição de genes que respondem ao relógio circadiano em plantas (por ligação aos fatores *cis* nos promotores dos respectivos genes). Alguns desses fatores de transcrição fariam parte do mecanismo central do relógio circadiano em plantas (ver a seguir).

Diversos genes controlados pelo relógio circadiano (*gcr*) codificam proteínas envolvidas no processo fotossintético, como CAB (proteínas ligadoras de clorofila a e b), subunidade pequena da Rubisco, Rubisco ativase e anidrase carbônica. Vários genes fotossintéticos comumente apresentam picos de expressão (geralmente medidos como acúmulo de mRNA) no início da manhã subjetiva e um mínimo de expressão no meio da noite subjetiva. Outros *gcrs* não envolvidos no processo fotossintético apresentam picos de expressão em uma fase circadiana distinta dos genes fotossintéticos. Por exemplo, o gene de catalase (*cat3*) de *Arabidopsis* possui um pico de expressão no início da noite subjetiva. Estudos envolvendo análise simultânea da expressão de vários genes com

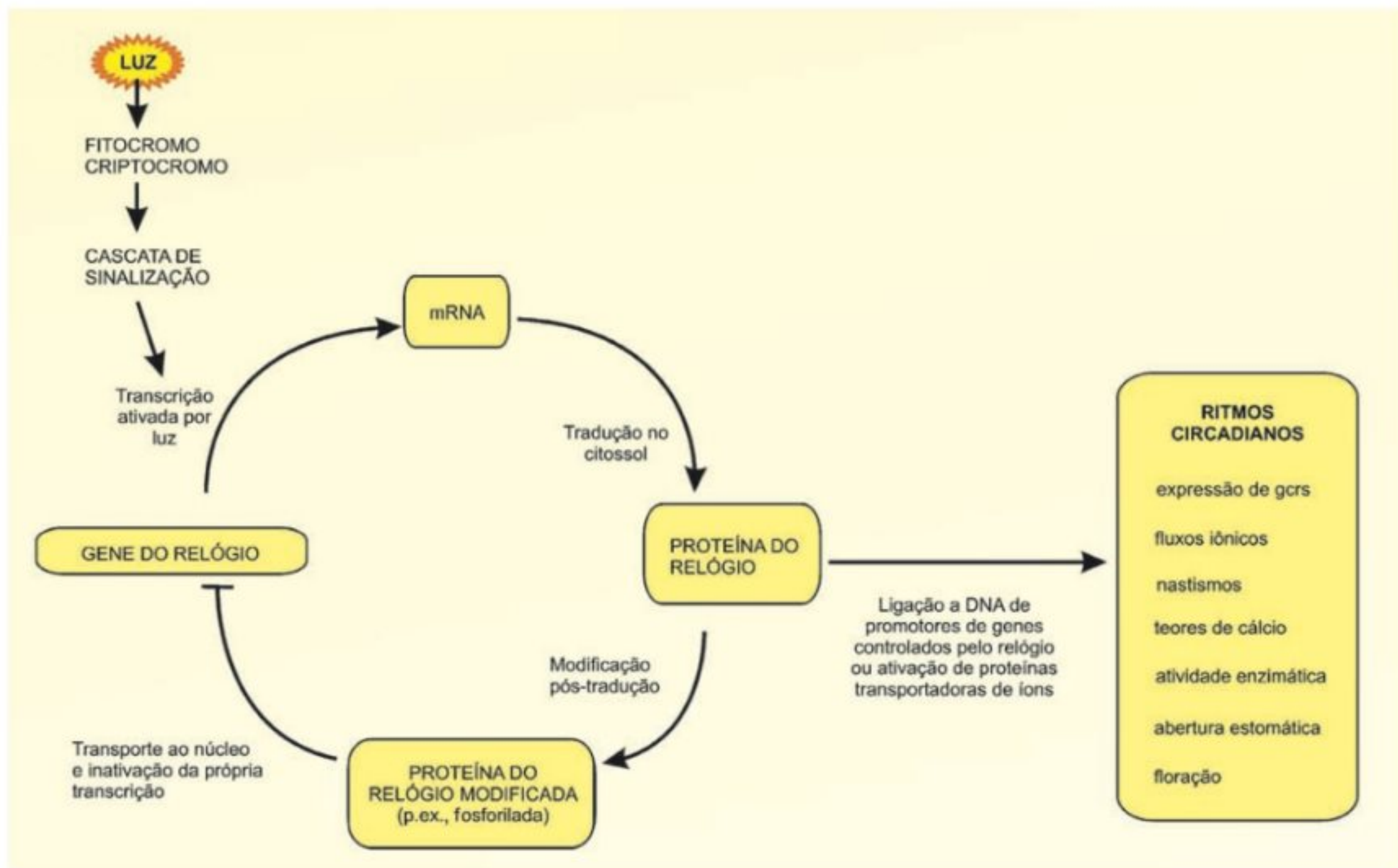


FIGURA 17.4

Modelo hipotético de relógio circadiano em plantas. Luz percebida por fotorreceptores (rotas de transdução externas) sincronizaria o mecanismo gerador de ritmo (círculo) ao ambiente, ativando a transcrição do gene do relógio. Após a transcrição, processamento e tradução, formar-se-ia a proteína do relógio, a qual regularia a expressão de genes controlados pelo relógio (gcrs) e/ou a atividade de proteínas transportadoras de íons (p. ex., cálcio), controlando vários processos circadianos (rotas de transdução internas). A proteína do relógio, após acumular-se até certa concentração, pode ser modificada, entrar no núcleo e inibir a transcrição do próprio gene do relógio. O tempo de execução dessas alterações moleculares e bioquímicas é de cerca de 24 horas, gerando uma periodicidade auto-sustentada. Dessa forma, com a auto-regulação da proteína do relógio, fecha-se o ciclo circadiano, o qual encontra “um fim no seu início”.

microarranjos de DNA indicaram que 6% de 8.200 genes de *Arabidopsis* examinados apresentaram alterações circadianas nos teores basais (*steady-state*, resultado do equilíbrio dinâmico entre síntese e degradação) de RNA-mensageiros. Os genes regulados de forma circadiana participam de uma vasta gama de processos metabólicos e de desenvolvimento, tais como captação fotossintética de luz, fotorreceptores (fitocromo B, criptocromos 1 e 2, fototropina 1), rota de fenilpropanóides (resultam na biossíntese de fenóis protetores contra UV), dessaturação de lipídios, resistência ao frio, vias glicolítica e das pentose-fosfato, transportadores de hexoses, mobilização de amido, assimilação de nitrogênio e enxofre, tempo de floração e alongamento celular (transportadores de saída de auxina, expansinas, biossíntese de celulose, aquaporina) (Harmer *et al.*, 2000).

Diferentes ritmos em um mesmo organismo podem apresentar períodos de curso livre distintos. Por exemplo, o movimento foliar do feijoeiro apresenta um período de cerca de 27 horas em condições contínuas, enquanto o ritmo de abertura estomática sob as mesmas condições é de cerca de 24 horas. Em mutantes da alga unicelular *Chlamydomonas reinhardtii*, o

ritmo em fototaxia (migração dos indivíduos em direção à luz da superfície) parece apresentar um período distinto do apresentado pelo mRNA de anidrase carbônica (*cah 1*). Esses ritmos de curso livre com períodos distintos têm sido apontados como evidências da existência de mais de um gerador de ritmo nas células de um organismo, sendo grupos de ritmos controlados por diferentes geradores de ritmo. Outra interpretação é a de que existem vários geradores de ritmo interconectados (ou seja, vários sistemas de retroalimentação negativa de proteínas auto-reguladas que interagem), sendo um deles dominante (determinaria a fase, ou seja, o tempo do dia ditado pelo relógio circadiano), enquanto os demais seriam dependentes ou “escravos”. Diferentes ritmos estariam acoplados ao gerador de ritmo dominante em maior ou menor grau.

Em *Arabidopsis thaliana*, foi isolado um mutante circadiano (*TOC 1-1*, *timing of cab*, ou tempo de expressão do gene da proteína ligadora de clorofila a e b) alterado em um gene que é possivelmente parte integrante do mecanismo central gerador de ritmo nessa espécie. O isolamento do mutante circadiano *TOC 1-1* envolveu um esquema de seleção altamente engenhoso, desenvol-

redução nos níveis de expressão dos genes *LHY* e *cca1*, reprimidos pelo acúmulo de suas respectivas proteínas, permitindo elevação dos teores de RNA-mensageiro de *TOC 1* especialmente perto do entardecer (quando a expressão de *LHY* e *cca1* atingiria um teor mínimo). A proteína TOC1, possivelmente de forma indireta (por interação física proteína-proteína com outras proteínas ligadoras de DNA), parece aumentar a expressão dos genes *LHY* e *cca1*, os quais atingiriam níveis máximos de mRNA ao amanhecer, reiniciando o ciclo.

Outros genes participam também deste mecanismo central, reforçando as interações descritas. Os genes *early flowering 4 (elf4)*, *gigantea (gi)* e *lux arrhythmo (lux)* ativam a transcrição de *cca1/LHY* e têm sua transcrição reprimida pelas proteínas *cca1/LHY*. Os fatores *prf5*, *prf7* e *prf9 (pseudo response regulators)*, parálogos de TOC1, reprimem a expressão de *cca1/LHY*, enquanto sua própria expressão é estimulada por *cca1/LHY* (McClung, 2006). Embora o controle transcricional seja fundamental para o funcionamento do relógio circadiano, modificações pós-traducionais e estabilidade protéica também parecem ser muito importantes. Os níveis de TOC1 que atuam no mecanismo central do relógio circadiano também dependem de estabilidade protéica, que pode ser regulada pela proteína ZTL (ZEITLUPE), a qual é estruturalmente relacionada às fototropinas. A fosforilação de *cca1* e *LHY* por caseína quinase II (CKII) parece também estar envolvida na operação adequada do relógio circadiano (McClung, 2006). Um trabalho recente propõe a inclusão de *elf4* como parte do mecanismo central do relógio, junto com TOC1 e *cca1/LHY*, uma vez que esta proteína é necessária para o ajuste do relógio a um ciclo ambiental e para a sustentabilidade do ritmo em condições constantes (McWatters *et al.*, 2007). ELF4 é necessário para a expressão de *cca1* e TOC1 em condições de curso livre. A compensação de temperatura, caracterizada pela manutenção da robustez de período do ritmo em uma ampla faixa de temperaturas fisiológicas, parece estar ligada ao efeito oposto e contrabalançado de temperaturas elevadas sobre a expressão de *gi* e *lhy*. Em temperaturas baixas, *cca1* parece ter um papel mais importante neste processo (Jiao *et al.*, 2007).

INTERAÇÃO ENTRE RELÓGIO CIRCADIANO E FOTOPERIODISMO

O controle fotoperiódico da floração é mediado por um ritmo circadiano de sensibilidade à luz (ver também Cap. 18, Floração). O controle fotoperiódico da floração (indução floral em resposta ao comprimento dos dias e noites) constitui um claro exemplo de valor adaptativo da antecipação a mudanças ambientais; taxas bem-sucedidas de reprodução serão máximas em condições favoráveis. A importância desses sinais fotoperiódicos não é restrita a plantas de clima temperado. Mesmo em florestas próximas do Equador, onde a variação no comprimento total dos dias e noites é mínima, a variação na hora de amanhecer e anoitecer ao longo do ano está fortemente correlacionada aos períodos de floração sincrônica e bimodal observada em várias espécies arbó-

reas (Borchert *et al.*, 2005). O sincronismo de floração observado dentro destas espécies é vital ao sucesso reprodutivo, particularmente considerando-se a freqüentemente grande distância física entre os indivíduos.

Em cevada (*Hordeum vulgare*, cv. Wintex), uma planta de dia longo facultativa, foi demonstrado que, em condições de luz constante, ocorreu uma resposta fotoperiódica à suplementação com luz vermelha extrema que variou de forma circadiana. A sensibilidade da promoção de floração por suplementação com luz vermelha extrema é mais pronunciada se aplicada aproximadamente 6 horas antes do amanhecer subjetivo e menos pronunciada quando aplicada cerca de 6 horas após este. Resposta bastante similar foi observada em *Arabidopsis thaliana*, e, em ambos os casos, não se evidenciou efeito significativo da fotossíntese no processo. Esses e outros resultados com diversas espécies, tanto de dia longo como de dia curto, sugerem que a mensuração do comprimento do dia é regulada, ao menos em parte, pelo relógio circadiano, o qual atua como um *regulador permissivo* da eficiência de elementos das rotas de fototransdução (por exemplo, a forma vermelha extrema do fitocromo). O relógio circadiano controla a eficiência de percepção de luz pelos fotorreceptores da planta, afetando, por conseguinte, a resposta fotoperiódica da floração.

A interação do relógio circadiano com o fotoperiodismo tem sido confirmada com evidências genéticas, pois mutantes circadianos como *TOC 1-1* e *cca1* tendem a apresentar fenótipos fotoperiódicos (sensibilidade alterada do processo de floração em relação a comprimento de dias e noites). Análises de vários mutantes circadianos de *Arabidopsis* com fenótipos fotoperiódicos indicam que a integração da informação temporal fornecida pelo sistema circadiano, com discriminação de luz/escuro iniciada por fotorreceptores específicos, dá-se em nível da função da proteína *constans (CO)*, um importante fator ativador de transcrição, de expressão regulada de forma circadiana, que acelera a floração sob fotoperíodos indutivos (promovendo a atividade de genes-alvo envolvidos no estímulo à floração, como *ft – flowering locus T* ou *locus* de floração T (cujo produto protéico é considerado um importante sinal bioquímico de longa distância da indução fotoperiódica nas folhas para o meristema apical; ver Corbesier *et al.*, 2007) – e *soc1 – supressor of overexpression of co1* ou supressor da superexpressão de *constans 1*) (Suárez-Lopez *et al.*, 2001).

Um mecanismo de coincidência com o ambiente exterior, baseado no controle circadiano endógeno dos níveis de RNA-mensageiro do gene *constans*, acoplado à regulação da função da proteína *constans* por luz (via efeitos dos fotorreceptores nos níveis da proteína *constans* ou em sua atividade intrínseca), parece constituir a base molecular da regulação do tempo de floração pelo comprimento do dia, ao menos em *Arabidopsis* (planta de dia longo facultativa) (Yanovsky e Kay, 2002). Nesse modelo, a luz não só faria o ajuste do relógio circadiano, mas também atuaria diretamente promovendo a progressiva expressão de alguns genes de controle da floração. Em plantas de dia curto (como arroz, *Oryza sativa*), para as quais a fase mais crítica para floração é a noturna, uma variação desse mecanismo hipotético

foi descrita, em que, além do controle circadiano da expressão do gene *constans* ou seu homólogo (que seria comum a plantas de dia longo e de dia curto), a atividade da proteína *constans* ou sua homóloga sobre seus alvos seria no sentido de inibir a transcrição, e não de promovê-la, como na planta de dia longo *Arabidopsis thaliana* (Cremer e Coupland, 2003).

REFERÊNCIAS

- Alabadi D, Oyama T, Yanovsky MJ *et al.* Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science*, 2001; 293:880-883.
- Borchert R, Renner SR, Calle Z, Navarrete D, Tye A, Gautier L, Spichiger R, Von Hildebrand P. Photoperiodic induction of synchronous flowering near the Equator. *Nature*, 2005; 433:627-629.
- Castillon A, Shen H, Huq E. Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome mediated light signaling networks. *Trends in Plant Science*, 2007, 12:514-521.
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan J, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C, Coupland G. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science*, 2007; 316:1030-1033.
- Cremer F, Coupland G. Distinct photoperiodic responses are conferred by the same genetic pathway in *Arabidopsis* and rice. *Trends in Plant Science*, 2003; 8:405-407.
- Harmer LS, Hogenesch JB, Straume M *et al.* Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science*, 2000; 290:2110-2113.
- Huq E. Degradation of negative regulators: a common theme in hormone and light signaling networks? *Trends in Plant Science*, 2006; 11:4-7.
- Jiao Y, Lau OS, Deng XW. Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nature Reviews/Genetics*, 2007; 8:217-230.
- Johnson CH, Knight MR, Kondo T *et al.* Circadian oscillations of cytosolic and chloroplastic free calcium in plants. *Science*, 1995; 269:1863-1865.
- Liscum E, Hogson DW, Campbell TJ. Blue light signaling through the cryptochromes and phototropins. So that's what the blues is all about. *Plant Physiology* 2003; 133:1429-1436.
- Martínez-García JF, Huq E, Quail PH. Direct targeting of light signals to a promoter element-bound transcription factor. *Science*, 2000; 288:859-863.
- McClung CR. Plant circadian rhythms. *Plant Cell*, 2006; 18:792-803.
- McWatters HG, Kolmos E, Hall A, Doyle MR, Amasino RM, Gyula P, Nagy F, Millar AJ, Davis SJ. *ELF4* is required for oscillatory properties of the circadian clock. *Plant Physiology*, 2007; 144:391-401.
- Salomé PA, Michael TP, Kearns EV, Fett-Neto, AG *et al.* The *out of phase* mutant defines a role for PHYB in circadian phase control in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2002; 129:1674-1685.
- Suárez-López P, Wheatley K, Robson F, Onouchi H *et al.* *CONSTANS* mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature*, 2001; 410:1116-1120.
- Yanovsky MJ, Kay AS. Molecular basis of seasonal time measurement in *Arabidopsis*. *Nature*, 2002; 419:308-312.
- Wang H, Ma L-G, Li J-M, Zhao H-Y, Deng XW. Direct interaction of *Arabidopsis* cryptochromes with COP1 in light control development. *Science*, 2001; 294:154-158.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Cipolla-Neto J, Marques N, Menna-Barreto LS. *Introdução ao Estudo da Cronobiologia*. Ícone/EDUSP, São Paulo, 1988, 270p.
- Imaizumi T, Kay AS. Photoperiodic control of flowering: not only by coincidence. *Trends in Plant Science*, 2006; 11:550-558.
- Jiao Y, Lau OS, Deng XW. Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nature Reviews/Genetics*, 2007; 8:217-230.
- McClung CR. Circadian rhythms in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001; 52:139-162.
- McClung CR. Plant circadian rhythms. *Plant Cell*, 2006; 18:792-803.
- Vince-Prue D. The duration of light and photoperiodic responses. In: Kendrick RE, Kronenberg GHM (eds). *Photomorphogenesis in Plants*. Kluwer Academic, Dordrecht, 1994, pp 447-490.

Floração

Ana Paula Artimonte Vaz, Henrique Pessoa dos Santos e Lilian Beatriz Penteado Zaidan

INTRODUÇÃO

Devido à sua importância econômica, a floração tem sido bastante estudada em todo o mundo e é objeto de inúmeras revisões que, de tempos em tempos, mostram os avanços do conhecimento científico sobre o tema. Certamente, a conversão do meristema caulinar vegetativo em estruturas reprodutivas é um dos mais dramáticos e ainda enigmáticos eventos na vida das plantas superiores. Enquanto a floração representa o término do ciclo de vida nas plantas anuais ou bianuais, nas plantas perenes marca o final de mais um ciclo de crescimento.

Apesar de se conhecer há longo tempo a estreita relação entre a floração e as estações do ano, esse processo ainda não é bem entendido pelos pesquisadores. Uma melhor compreensão de como as plantas respondem aos fatores ambientais, principalmente luz, temperatura, disponibilidade de nutrientes e água, trouxe benefícios incalculáveis para a horticultura e a agricultura em geral, permitindo a escolha das épocas e dos locais de plantio mais adequados às culturas, otimizando as colheitas e disponibilizando produtos em função das necessidades e demandas do mercado.

Estudos sobre a indução e o desenvolvimento floral, assim como abordagens científicas da qualidade e longevidade das flores, são indispensáveis para o aprimoramento das técnicas de cultivo e comercialização. Mesmo assim, grande parte do que se conhece sobre floração baseia-se em um número relativamente pequeno de espécies, geralmente herbáceas e de regiões temperadas, sendo nosso entendimento sobre as plantas tropicais ainda mais modesto e nem sempre conclusivo.

FASES DE DESENVOLVIMENTO

Durante o ciclo de vida das plantas, as células meristemáticas alteram suas vias de desenvolvimento, resultando na produção

de novas estruturas. As plantas superiores apresentam três fases de desenvolvimento relativamente bem definidas e que ocorrem numa seqüência obrigatória: a fase juvenil, a fase adulta vegetativa e a fase adulta reprodutiva.

Diferentemente dos animais, as mudanças de fase de desenvolvimento nas plantas são centralizadas nos meristemas caulinares, apical e axilares. Os meristemas caulinares podem ser vegetativos ou florais, estes últimos formados apenas quando a planta é induzida à floração.

A principal distinção entre a fase juvenil e a fase adulta vegetativa reside na possibilidade de que, nesta última, sejam formadas estruturas reprodutivas, como as flores, nas angiospermas, ou os cones, nas gimnospermas. Essas estruturas reprodutivas, na verdade, são folhas modificadas, idéia esta primeiramente registrada nos textos do poeta alemão Goethe, em 1790, e posteriormente corroborada com estudos morfológicos, fisiológicos e genéticos.

A transição da fase juvenil para a fase adulta vegetativa é geralmente um processo gradual e pode ser acompanhada por alterações em algumas características vegetativas, como a morfologia e a disposição (filotaxia) das folhas ou a modificação na capacidade de enraizamento de ramos ou mesmo de folhas. Por outro lado, a transição da fase adulta vegetativa para a fase adulta reprodutiva, caracterizando a primeira etapa da reprodução sexuada, está associada a várias mudanças fisiológicas nas plantas.

A transição floral envolve uma seqüência de etapas associadas a intensas mudanças nos padrões de morfogênese e diferenciação celular do ápice meristemático caulinar, apical ou axilar, resultando em meristemas reprodutivos, suficientemente aptos a produzir flores ou inflorescências.

As plantas exibem um gradiente espacial de juvenilidade no eixo caulinar. Enquanto as células e estruturas que caracterizam a fase adulta e reprodutiva se encontram na região superior e

periférica do ápice meristemático, os tecidos e órgãos juvenis estão localizados nas regiões inferiores do caule.

Por conveniência, subdivide-se o processo de floração em três fases: indução, evocação e desenvolvimento floral.

INDUÇÃO DA FLORAÇÃO

A indução floral refere-se aos eventos que sinalizam à planta a alteração do seu programa de desenvolvimento. Como consequência, o meristema caulinar se reestrutura para produzir um primórdio floral, em vez de um primórdio foliar. A indução floral ocorre principalmente nas folhas, mas também pode dar-se em outros órgãos. É importante salientar que a aquisição de identidade floral por um meristema representa apenas um subprograma no desenvolvimento reprodutivo.

O estímulo indutor resulta tanto de fatores endógenos, tais como o estado nutricional, os teores hormonais e os ritmos circadianos, como de fatores ambientais, portanto externos à planta, dentre eles o comprimento relativo dos dias (fotoperíodo), a irradiância, a temperatura e a disponibilidade de água.

A evolução de sistemas de controle interno (regulação autônoma, como observado em cultivares de floração precoce ou tardia da ervilha, *Pisum sativum*) e externo (regulação ambiental) permite a sincronização do desenvolvimento reprodutivo das plantas com o ambiente e, portanto, uma regulação bastante específica da época de florescimento.

Assim, para que haja sucesso reprodutivo, a floração deve ocorrer quando houver disponibilidade de polinizadores e condições favoráveis para a dispersão de frutos e sementes, além de temperatura, luminosidade e umidade adequadas para a germinação das sementes e para o crescimento e estabelecimento da nova planta (ver Cap. 20, Germinação).

Fatores ambientais

A sucessão das estações do ano — primavera, verão, outono e inverno — é o fator ambiental mais constante do planeta, uma vez que depende substancialmente da forma e inclinação da Terra e de seus movimentos de rotação e de translação ao redor do Sol.

A habilidade das plantas e animais de detectar as variações do ambiente, como o comprimento relativo dos dias e das noites e as variações de temperatura, permite que determinado evento ocorra em uma época particular do ano, constituindo, portanto, uma resposta sazonal. Como exemplo, podem ser citadas a queda de folhas em muitas arbóreas, a formação e a brotação de gemas, a alteração na plumagem e a migração de aves, as fases de desenvolvimento dos insetos, a hibernação de mamíferos etc. Sincronizando os ciclos vegetativo e reprodutivo entre indivíduos da mesma espécie, o controle sazonal da reprodução favorece a fecundação cruzada e, portanto, a recombinação gênica, além de permitir que a progênie se desenvolva em condições ambientais favoráveis.

Já é bem conhecido que a floração de muitas espécies herbáceas e mesmo arbóreas está substancialmente associada às esta-

ções do ano, porém ainda não se compreende totalmente como ocorre a percepção e a tradução dos sinais ambientais pelas plantas. Aparentemente, a percepção dos fatores ambientais se dá de maneira integrada entre as diferentes partes da planta, de tal sorte que o controle da floração consistiria em um conjunto de sinais de natureza química que seriam transportados através do floema juntamente aos assimilados.

As plantas podem apresentar respostas qualitativas ou obrigatórias, isto é, quando há necessidade absoluta de um ou mais fatores ambientais para que a floração ocorra; e respostas quantitativas ou facultativas, quando a floração é promovida pelo fator ambiental, podendo ainda ocorrer na ausência deste.

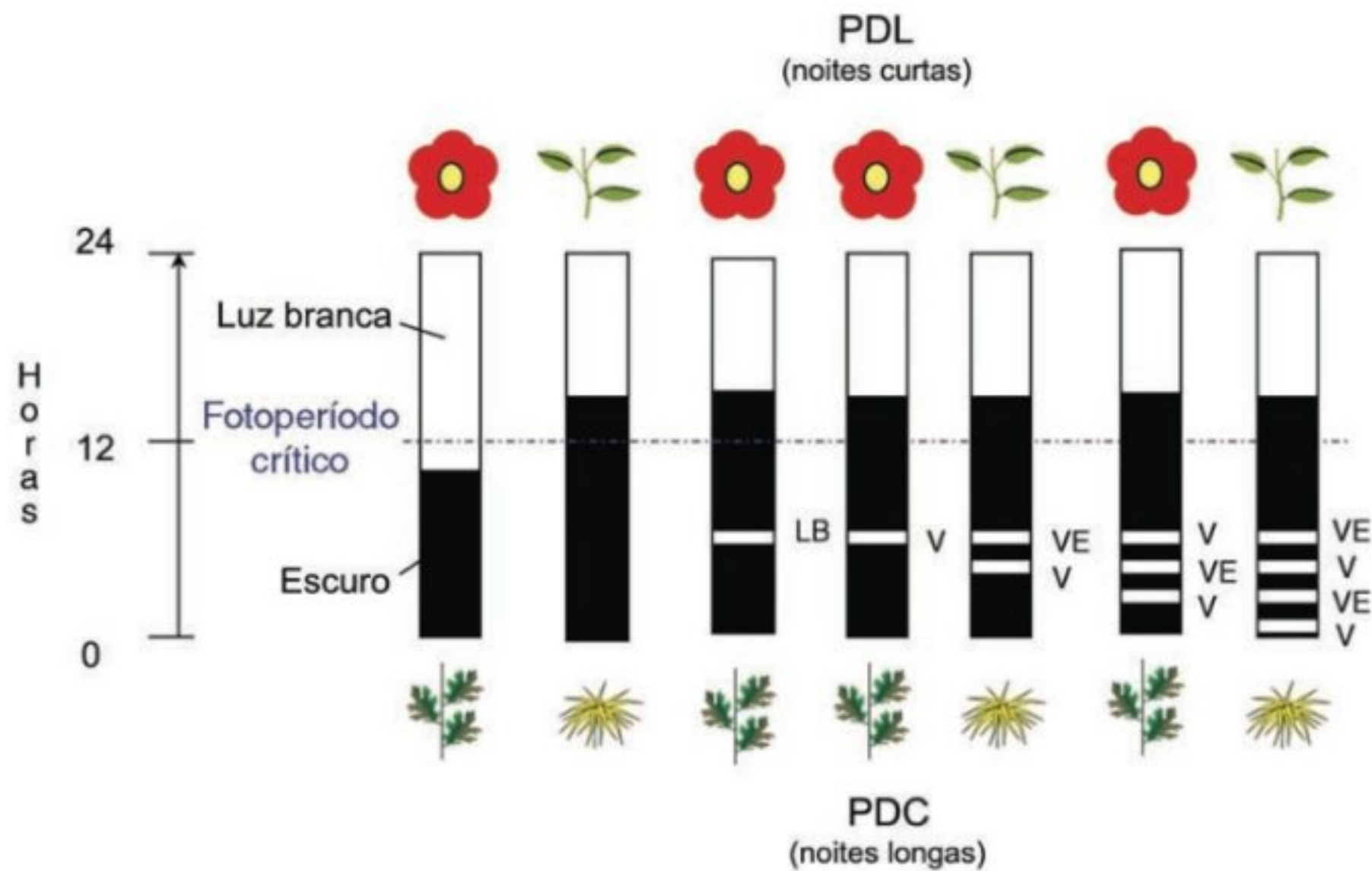
Apesar de as regiões tropicais não terem como característica variações substanciais de temperatura e fotoperíodo durante o ano, são encontradas plantas suficientemente sensíveis às pequenas mudanças no comprimento relativo do dia, na irradiância (quantidade) e na composição espectral da luz (qualidade), ou na temperatura.

LUZ

O efeito do comprimento dos dias como fator determinante para a sazonalidade da floração foi originalmente proposto por Wightman Garner e Harry Allard, em 1920, trabalhando com plantas de soja e com o mutante “Maryland Mammoth” de tabaco. Foram esses autores que introduziram os termos fotoperíodo — comprimento relativo do dia e da noite — e fotoperiodismo — palavra grega que associa luz e duração do dia, representando a habilidade de um organismo, planta ou animal em detectar e responder às variações do comprimento dos dias. Atualmente, é bastante aceita a hipótese do envolvimento do ritmo circadiano nas respostas fotoperiódicas, como mecanismo controlador do tempo necessário para determinar os ritmos diários de expressão gênica e comportamento (ver Cap. 17, Ritmos Circadianos nas Plantas).

Dentre os processos do desenvolvimento vegetal regulados pelo comprimento do dia, encontram-se a tuberização, a dormência e brotação de gemas, a senescência, o enraizamento de estacas e a floração, sendo esta última a mais estudada.

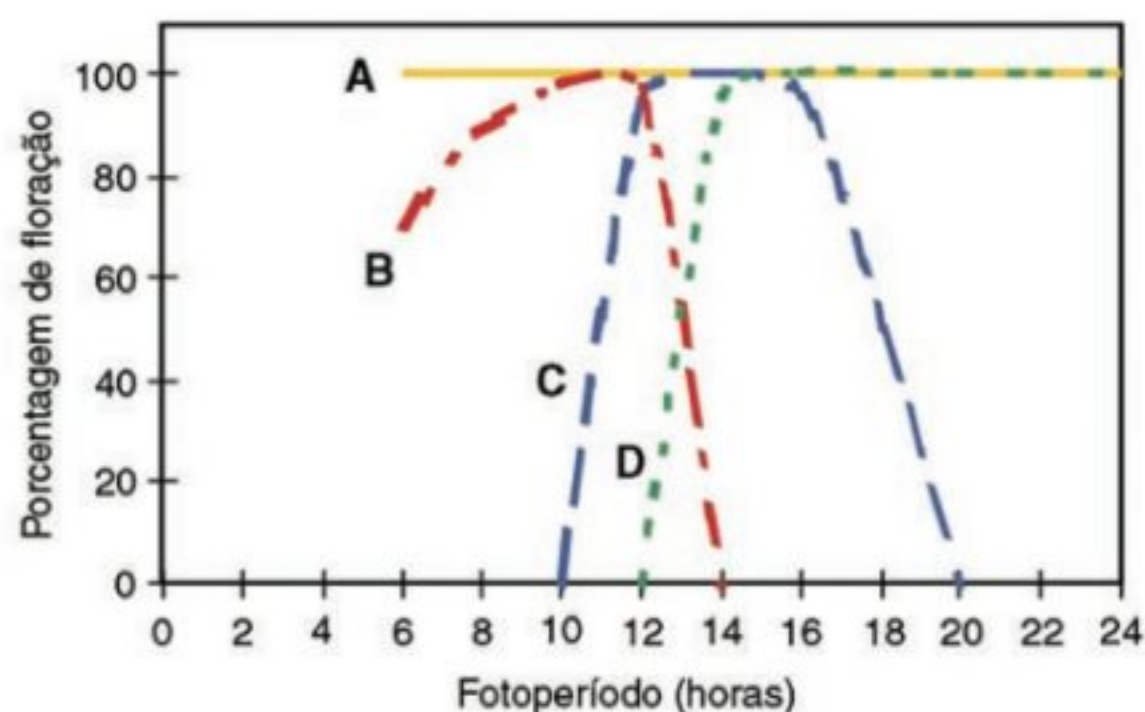
A resposta fotoperiódica de uma planta é determinada geneticamente e a sua classificação é baseada na transição floral. Dessa maneira, distinguem-se as plantas de dias curtos (PDC) ou de noites longas, que florescem quando mantidas em fotoperíodos inferiores a determinado valor crítico (fotoperíodo crítico); e as plantas de dias longos (PDL) ou de noites curtas, as quais têm sua floração promovida quando o comprimento do dia excede certa duração (fotoperíodo crítico) (Fig. 18.1). Assim, o fotoperíodo crítico pode ser definido como o comprimento do dia em horas de luz, num ciclo de 24 horas, abaixo do qual na PDC ou acima do qual na PDL a floração é induzida. Existem também espécies que não têm a floração regulada pelo fotoperíodo, as quais florescem aproximadamente ao mesmo tempo sob vários comprimentos do dia. São denominadas plantas neutras, indiferentes ou autônomas (PDN). Outras espécies são chamadas plantas de dia intermediário (PDI), pois apenas florescem num

**FIGURA 18.1**

Controle fotoperiódico da floração. PDC = Plantas de dias curtos — noites longas) florescem quando submetidas a períodos de luz inferiores ao fotoperíodo crítico. PDL = Plantas de dias longos — noites curtas) florescem quando cultivadas sob períodos de luz superiores ao fotoperíodo crítico. Os tratamentos fotoperiódicos evidenciam a importância da duração do período de escuro na determinação da floração, assim como do tipo de luz fornecida às plantas. A interrupção do período de escuro por um pulso de luz branca (LB) promove a floração nas PDL, enquanto esse processo é inibido nas PDC. Um pulso de luz de comprimento de onda vermelho (V) durante o período de escuro induz a floração nas PDL, e seu efeito é revertido pela luz de comprimento de onda vermelho extremo (VE), indicando o envolvimento do fitocromo. Nas PDC, um pulso de luz vermelha inibe a floração, enquanto o oposto é observado na presença de luz de comprimento de onda vermelho extremo.

determinado intervalo de horas de luz, por exemplo em fotoperíodos entre 12 e 16 horas (Fig. 18.2).

É necessário um estudo amplo para estabelecer a classificação correta de uma planta, pois o valor do fotoperíodo crítico é bastante variável entre as espécies e, muitas vezes, extremamente preciso, como na PDC *Xanthium strumarium*, em que a

**FIGURA 18.2**

Tipos de respostas de floração. A. Planta indiferente ao fotoperíodo. B. Planta de dia curto qualitativa. C. Planta de dia intermediário. D. Planta de dia longo qualitativa.

ocorrência ou não da floração pode ser definida num intervalo de apenas 15 minutos. Essa sensibilidade ao fotoperíodo tende a ser mais aguçada em algumas plantas da região equatorial, onde as oscilações no comprimento dos dias são pequenas entre as estações do ano.

Podem ser citados como exemplos de PDC o *Kalanchoe blossfeldiana*, o crisântemo e o bico-de-papagaio, plantas estas que são induzidas à floração escurecendo-se as estufas de produção comercial, visando atender à demanda de mercado em datas específicas.

A cana-de-açúcar é uma PDL, cuja floração deve ser evitada nos cultivos comerciais, uma vez que a sacarose é mobilizada para as inflorescências, diminuindo a concentração de carboidratos nos colmos.

Exemplos de PDN são a cebola (*Allium cepa*), o amendoim (*Arachis hypogea*), o melão (*Cucumis melo*), o pepino (*Cucumis sativus*), assim como *Pinus* spp. e a videira (*Vitis vinifera*).

Já o picão-do-cerrado (*Bidens gardneri*) comporta-se como uma PDI, florescendo em períodos de luz bastante específicos, entre 12 e 16 horas de luz diária. Outros exemplos de PDI são o manjeriço (*Ocimum basilicum*) e a pimenta (*Capsicum annuum*).

Experimentos detalhados, modificando-se a duração dos períodos relativos de luz e escuro, assim como a interrupção da noite por uma breve exposição à luz (tornando ineficiente o período de

escuro), ou a interrupção do dia com um período curto de escuro, evidenciaram a importância do período escuro como fator central na indução floral. Dessa maneira, plantas de dia curto necessitam de noites longas para florescer, enquanto as plantas de dia longo florescem quando períodos de noites curtas são fornecidos (Fig. 18.1). Para estas últimas, o período mais prolongado de luz pode estar associado à necessidade de acúmulo dos produtos fotossintéticos para continuação dos processos bioquímicos iniciados no escuro. No entanto, em condições experimentais, a luz fornecida para prolongar o número de horas diárias de luz é de baixa intensidade e portanto ineficiente para a fotossíntese.

O controle do desenvolvimento da planta pela luz é dependente da detecção e absorção do estímulo luminoso. Entretanto, a luz, por si só, não constitui a informação morfogenética, e o mesmo pode ser dito em relação aos receptores de luz na planta. A resposta morfogenética é resultante dos efeitos da luz captada pelos fotorreceptores quando em células sensíveis ou competentes para seguir uma nova via de desenvolvimento.

Essas respostas morfogenéticas nas plantas estão associadas à detecção de cinco regiões do espectro visível, por no mínimo três classes de fotorreceptores: (1) fotorreceptor UV-B, formado por uma ou mais substâncias ainda desconhecidas e que absorve a luz na faixa do ultravioleta-B (entre 280 e 320 nm); (2) criptocromo, cuja denominação se deve à sua importância nas respostas morfogenéticas das criptógamas; é constituído por um conjunto de pigmentos ainda não completamente caracterizados, os quais absorvem a luz na faixa do azul e do ultravioleta-A (entre 320 e 400 nm, ultravioleta longo); e (3) fitocromo, um conjunto de pigmentos cuja absorção ocorre principalmente no comprimento de onda vermelho (660 nm) e vermelho extremo (730 nm).

Os fotorreceptores controlam vários processos morfogenéticos nas plantas, desde a germinação e o desenvolvimento da plântula até a formação de novas flores e sementes. Neste capítulo será enfatizado o fitocromo, o fotorreceptor mais bem conhecido nas plantas vasculares.

Entre as décadas de 1930 e 1940, Lewis Flint e Edward McAlister observaram a promoção da germinação de sementes de alface sob luz com comprimento de onda vermelho, enquanto a inibição desse processo ocorria na presença de vermelho extremo. Em 1952, Harry Borthwick e cols. verificaram a reversão dos efeitos da luz com comprimento de onda vermelho após aplicação de vermelho extremo, e vice-versa. Essa reversão foi observada várias vezes, sendo o resultado final, inibição ou promoção da germinação, dependente do último comprimento de onda oferecido às sementes (Tabela 18.1).

A participação do fitocromo na floração foi sugerida por Borthwick e cols., entre os anos de 1945 e 1948. Realizando experimentos de interrupção do período de escuro com luz monocromática, em vez de luz branca, esses autores observaram que, sob luz com comprimento de onda vermelho, ocorria a inibição da floração na PDC *Xanthium strumarium*, enquanto a promoção desse processo era verificada na PDL *Hordeum vulgare*.

Semelhantemente à germinação, foi reproduzida, na indução da floração e em outros processos morfogenéticos, a reversão dos efeitos dos dois tipos de luz (vermelho, vermelho extremo),

TABELA 18.1
Efeitos da luz com comprimento de onda vermelho (V) e vermelho extremo (VE) sobre a germinação de sementes de alface (conforme H. A. Borthwick et al., 1952)

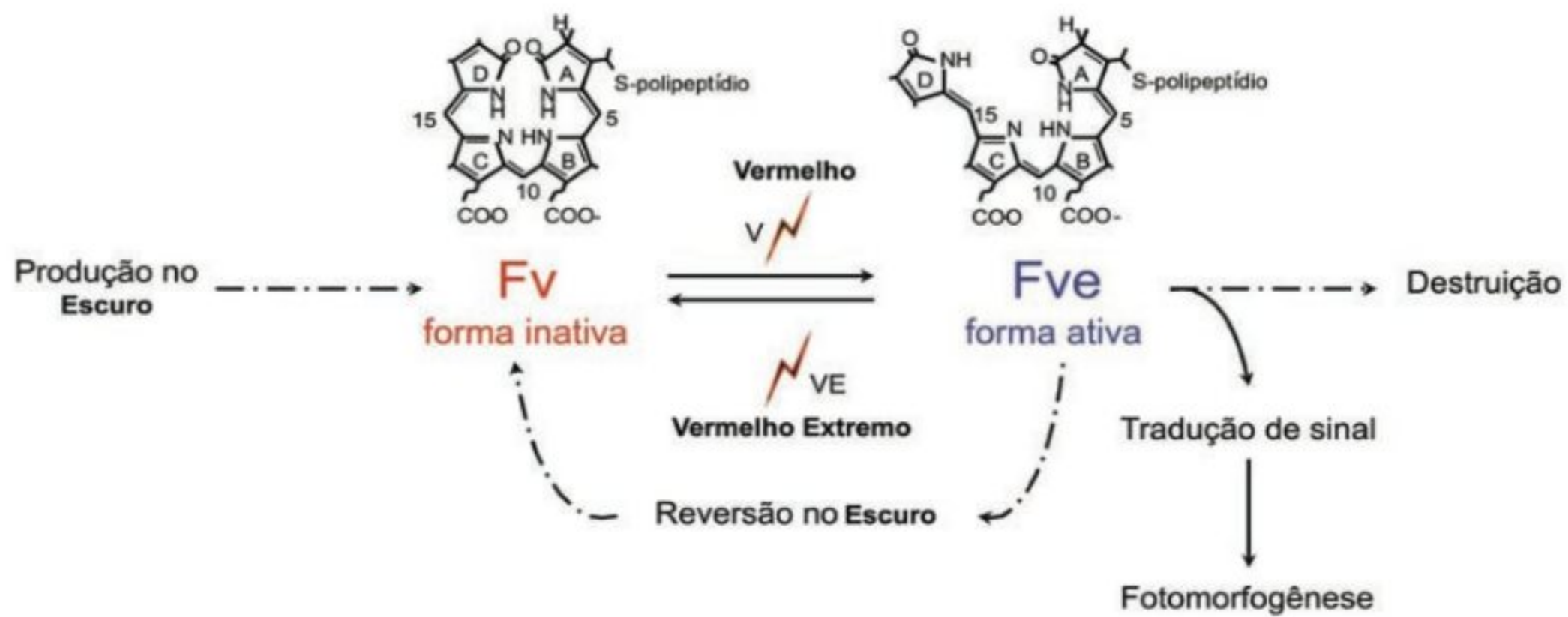
Tratamento de luz	Germinação (%)
Escuro	8,8
V	98,0
V : VE	54,0
V : VE : V	100,0
V : VE : V : VE	43,0
V : VE : V : VE : V	99,0

sendo que o último tipo de luz fornecida à planta determinava a ocorrência ou não da floração (Fig. 18.1). Na década de 1950, Harry Borthwick e Sterling Hendricks elaboraram a hipótese da existência de um pigmento fotorreversível, cuja absorção ocorria nos comprimentos de onda do vermelho e do vermelho extremo, hoje conhecido como fitocromo.

São encontradas duas formas de fitocromo: fitocromo vermelho (Fv) e fitocromo vermelho extremo (Fve) (Fig. 18.3). O Fv é a forma fisiologicamente inativa, sendo a única produzida no escuro. Na presença de luz, principalmente sob comprimento de onda vermelho, o Fv é convertido em Fve, sendo esta última a forma fisiologicamente ativa. Essa fotoconversão $Fv \leftrightarrow Fve$ é reversível e tem a mesma cinética em ambas as direções. O Fve formado a partir do estímulo luminoso é o tradutor do sinal de luz para a célula sensível ou competente em responder a esse estímulo. A luz ou o Fve não têm influência sobre o desenvolvimento dessa competência.

Ambas as formas, Fv e Fve, absorvem a luz no comprimento de onda do violeta e do azul, porém os resultados são fisiologicamente menos efetivos quando comparados ao vermelho e vermelho extremo. A luz verde, por sua vez, é pouco absorvida pelo fitocromo, sendo utilizada para visualização no acompanhamento dos experimentos com esses fotorreceptores.

Quimicamente, o fitocromo é uma cromoproteína formada por dois polipeptídios de 120 kDa idênticos, e dois cromóforos ligados ao resíduo de cisteína de cada polipeptídio por meio de um átomo de enxofre. O cromóforo corresponde ao sítio de absorção da luz no fitocromo, sendo um composto tetrapirrólico de cadeia aberta, semelhante ao pigmento fotossintético ficobilina das algas vermelhas e cianobactérias. Quando sob luz com comprimento de onda vermelho, a forma Fv é convertida para Fve, ocorrendo uma isomerização cis-trans na estrutura do cromóforo e resultando em alterações na porção protéica do fitocromo (Fig. 18.3). Essa mudança estrutural é a responsável pela atividade fisiológica do Fve e pela inatividade do Fv.

**FIGURA 18.3**

Representação esquemática da fotorreversão entre as duas formas do fitocromo, Fv e Fve, provocada pela presença de luz com comprimento de onda vermelho (V) ou vermelho extremo (VE). As linhas pontilhadas salientam a produção, destruição e reversão no escuro que ocorrem, principalmente, com os fitocromos do tipo I. As estruturas químicas representam as formas estruturais do grupo cromóforo do fitocromo quando este se encontra na forma Fv (esquerda) ou na forma Fve (direita).

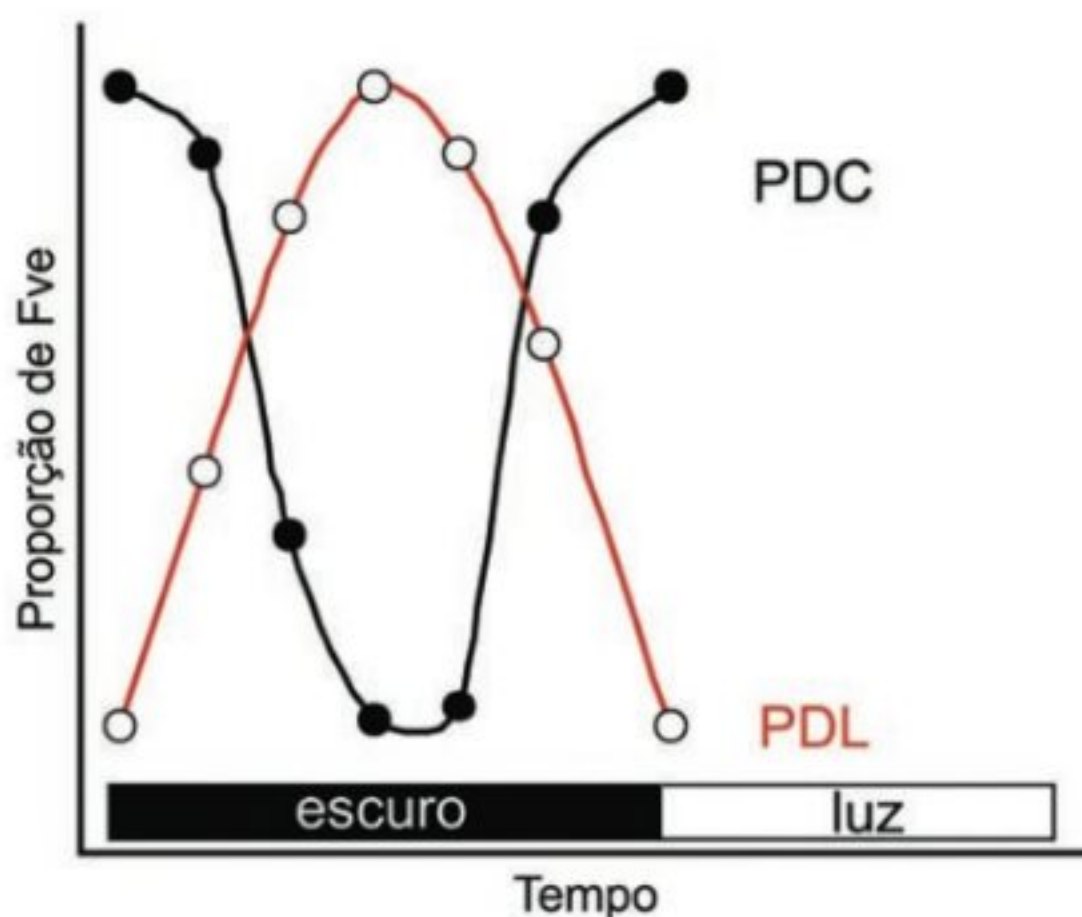
Nas PDC, um teor elevado de Fve no início do período noturno é vantajoso para a floração e, em alguns casos, é uma pré-condição para a indução floral. Por outro lado, na maioria das PDL, a promoção da floração ocorre quando o teor de Fve é elevado na metade do período noturno (Fig. 18.4). Apesar de esse comportamento rítmico também ser favorável nas PDL, as respostas dessas plantas são aparentemente mais complexas e podem estar associadas também aos criptocromos.

Em meados da década de 1980, alguns estudos evidenciaram a localização do fitocromo no núcleo e, principalmente, no citoplasma. Esses fotorreceptores foram classificados em dois grandes grupos: os fitocromos do tipo I, encontrados predomi-

nantemente nas raízes e plântulas estioladas, e os fitocromos do tipo II, presentes nas sementes e nas plantas crescidas sob luz. A maior proporção do fitocromo do tipo I em plantas estioladas está possivelmente associada à sua maior capacidade de detectar baixos estímulos de luz, além de sua degradação na presença de luz.

Os dois tipos de fitocromo apresentam propriedades espectrais distintas. Por exemplo, em aveia, a forma Fv do tipo I tem uma absorção máxima em 666 nm, enquanto, para a forma Fv do tipo II, esse valor se dá em 654 nm. As proteínas e os genes codificadores de ambos os tipos de fitocromo também são diferentes. Contudo, as diferenças restringem-se apenas à porção protéica, não tendo sido evidenciadas diferenças no grupo cromóforo dos dois tipos de fitocromo.

Uma vez que a luz é absorvida pelos fotorreceptores, ocorre a interpretação morfogênica do estímulo luminoso pela planta. Conforme apresentado na Fig. 18.5, o fitocromo é o fator chave na cadeia de reação e atua em cooperação com os demais fotorreceptores. Considerando suas propriedades físicas, o fitocromo

**FIGURA 18.4**

Variações na proporção de fitocromo Fve em plantas de dias longos (PDL) e plantas de dias curtos (PDC). Uma maior proporção de Fve no início do período de escuro é promotora da floração nas PDC.

**FIGURA 18.5**

Esquema da ação cooperativa dos fotorreceptores. A luz absorvida pelo criptocromo e pelo fotorreceptor de UV-B atua na sensibilidade da célula ao efeito promovido pelo fitocromo na forma Fve.

seria insuficiente para avaliar e absorver com eficácia todo o espectro visível da radiação solar. A luz absorvida pelos outros fotorreceptores, o criptocromo e o fotorreceptor de UV-B, pode determinar a sensibilidade das plantas ao Fve. Esta aparenta ser uma estratégia simples na qual um único ativador (Fve) seria suficiente para controlar a expressão gênica e capaz de fornecer uma informação completa do espectro solar, determinando a amplitude da fotomorfogênese.

Atualmente são conhecidos dois mecanismos pelos quais os fotorreceptores podem desencadear os processos morfogenéticos nas plantas. O primeiro mecanismo é o rápido efeito sobre a permeabilidade de membranas, enquanto o segundo, mais lento, modifica a fosforilação de certas proteínas e a entrada e saída de Ca^{2+} , interferindo na cascata de transdução dos sinais celulares e, conseqüentemente, alterando a expressão gênica.

Os fotorreceptores desencadeiam uma cascata de sinais que interagem com o ritmo circadiano, permitindo, de uma forma ainda não conhecida, a mensuração do comprimento do dia (ver Cap. 17, Ritmos Circadianos nas Plantas). Possivelmente, todas as respostas fotoperiódicas nas plantas utilizam os mesmos fotorreceptores, diferenciando-se, posteriormente, por vias específicas de transdução de sinais.

Além dos fotorreceptores mencionados, nas crucíferas — um grupo de plantas no qual se inserem as diversas variedades e mutantes de *Arabidopsis* bastante utilizados em estudos moleculares, como será visto adiante neste capítulo — foram identificados outros pigmentos que absorvem, na faixa azul do espectro, entre 455 e 500 nm. Entretanto, seus efeitos são difíceis de explicar e ainda não são totalmente conhecidos, pois o fitocromo também apresenta pequena absorção nesse comprimento de onda.

É fato bem estabelecido, na literatura, que a percepção do comprimento dos dias ocorre predominantemente nas folhas, e, em alguns casos, como nas PDC *Chenopodium rubrum* e *Pharbitis nil*, já nos próprios cotilédones. Em resposta ao estímulo fotoperiódico, as folhas sofrem mudanças metabólicas, resultando na produção independente de uma ou mais substâncias químicas transmissíveis, coletivamente denominadas de sinal floral. O sinal floral seria então transmitido ao meristema caulinar que, quando receptivo (competente), inicia a transição floral (Fig.

18.6). Entretanto, de forma curiosa, em plantas neutras, portanto não sensíveis ao fotoperíodo, as folhas também são fundamentais para a floração, pois quando desfolhadas não são capazes de produzir flores.

O fato de a percepção fotoperiódica ocorrer nas folhas enquanto a floração se dá no meristema caulinar sugere a necessidade de transmissão de um sinal floral químico entre esses dois órgãos distantes na planta, e possivelmente transportado pelo floema.

A idade e o desenvolvimento da planta interferem na sensibilidade ao comprimento do dia. Assim, há um número mínimo de folhas para que algumas plantas herbáceas respondam ao estímulo fotoperiódico. As respostas fotoperiódicas também podem ser profundamente modificadas por outros fatores ambientais, dentre estes a temperatura e a irradiância, esta última envolvendo alterações na capacidade fotossintética.

A floração induzida fotoperiódicamente parece estar associada à modificação nos teores de citocininas, giberelinas ou nas concentrações de açúcares. Entretanto, em geral, aplicações hormonais ou de carboidratos não substituem totalmente o tratamento fotoperiódico na indução floral. Em algumas espécies, como a PDC *Kalanchoe blossfeldiana*, a floração ocorre sob períodos bem curtos de luz, da ordem de alguns segundos, não envolvendo portanto a fotossíntese.

Essas evidências indicam a presença de uma ou mais substâncias móveis, entre as partes da planta, capazes de induzir a floração. O conhecimento da influência da luz e do controle fotoperiódico da floração tem possibilitado grandes avanços na comercialização de algumas espécies ornamentais, como *Chrysanthemum* (PDC) e *Euphorbia pulcherrima* (bico-de-papagaio, PDC).

TEMPERATURA

Nas plantas, a temperatura do ambiente também é um fator determinante de algumas respostas sazonais. No início do século XX, J. Gustav Gassner observou a necessidade de temperatura abaixo de determinado valor para a formação de flores em certas espécies de regiões temperadas. Nestas, a floração ocorre na primavera ou no

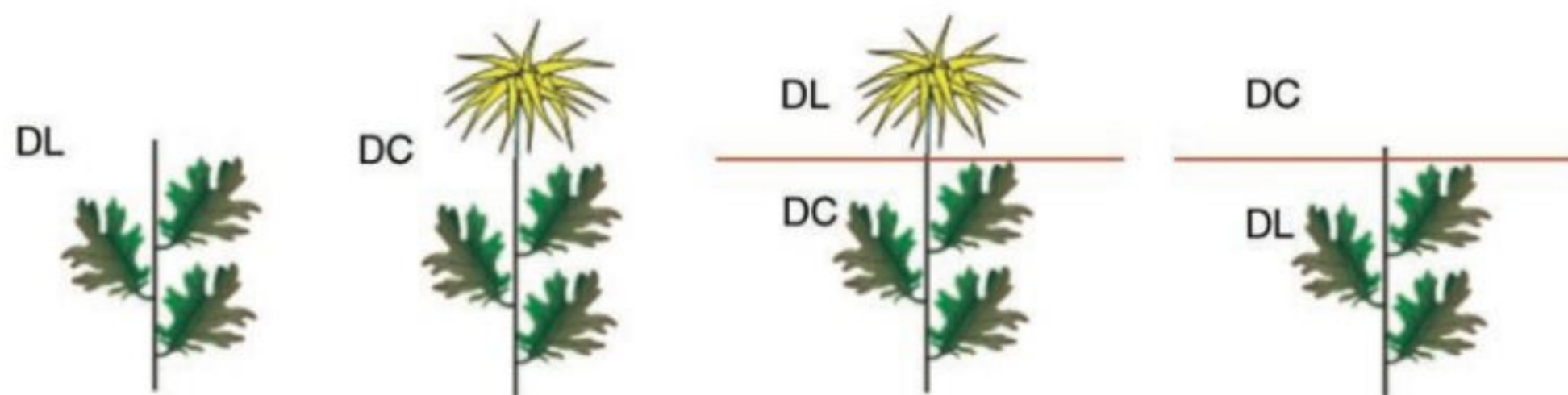


FIGURA 18.6

Experimento realizado com *Chrysanthemum morifolium*, uma PDC. O tratamento fotoperiódico de dia longo (DL) ou de dia curto (DC) foi aplicado isoladamente (as duas figuras à esquerda) ou simultaneamente (as duas figuras à direita) nas folhas e no ápice caulinar vegetativo. Os resultados evidenciam a importância das folhas, mais do que dos ápices vegetativos, na percepção do sinal fotoperiódico. As folhas seriam responsáveis pela produção do sinal floral e seu transporte ao meristema caulinar ocorreria pelo floema.

início do verão, após exposição da planta, durante certo número de dias, às baixas temperaturas do inverno (1 a 7°C, acima, portanto, do ponto de congelamento). Esse processo é denominado vernalização e, muitas vezes, está associado à necessidade posterior de dias longos, como verificado em algumas bulbosas como a tulipa, no centeio (*Secale cereale*) e em diversas cultivares de plantas bianuais, dentre estas beterraba, repolho, couve e aipo. As bianuais são plantas em roseta que necessitam completar dois períodos de crescimento antes da floração. Nessas plantas, a germinação ocorre na primavera, seguindo-se o período de crescimento da parte aérea durante o verão; no outono, as folhas senescem e caem, mas a gema apical é protegida pela bainha; na primavera seguinte, novas folhas são formadas e, desde que tenha ocorrido exposição apropriada ao frio no inverno anterior, há um rápido alongamento do pedúnculo floral.

Em algumas espécies, a desvernalização, ou seja, um tratamento de calor (em geral entre 30 e 40°C por alguns dias), pode eliminar, parcial ou totalmente, o efeito promotor de temperaturas baixas sobre a floração. Para ser eficaz, esse tratamento deve ser dado logo após o período de frio.

Experimentos com resfriamento localizado e enxertia demonstraram que os receptores do tratamento de frio são os tecidos com atividade mitótica, dentre os quais os meristemas caulinares que se tornam competentes para florescer. Entretanto, variações de temperatura também podem afetar a indução das folhas ou modificar outras etapas da resposta floral, tais como a iniciação e o desenvolvimento das gemas florais.

As temperaturas ótimas para a floração podem variar com a idade e o estado fisiológico da planta. Enquanto algumas espécies respondem à vernalização em fases precoces do desenvolvimento, ainda na fase de embrião ou no início da germinação, como em alguns cereais, outras se tornam sensíveis após um crescimento mínimo. Entretanto, temperaturas favoráveis à indução de floração podem causar características menos atrativas, tais como uma redução no número e no tamanho das flores.

Postula-se que as respostas às variações de temperatura seriam parcialmente reguladas por hormônios endógenos, tendo inclusive sido sugerida pelo alemão Georg Melchers, em 1937, a existência de uma substância específica, a vernalina; esta, todavia, até hoje não foi identificada. Na cenoura, a aplicação de giberelina mimetiza o efeito da vernalização, enquanto em plantas orquídeas como *Phalaenopsis* e *Dendrobium*, aumentos nos teores endógenos de citocininas (ver Cap. 10, Citocininas) e açúcares foram associados à diminuição da temperatura. Aumentos substanciais de citocininas em plantas de outras famílias, quando mantidas em temperaturas baixas, têm sido observados.

Do ponto de vista comercial, é bastante conhecida a indução floral por meio de choques térmicos de baixas temperaturas em orquídeas como *Phalaenopsis*, *Cymbidium* e *Dendrobium* (Fig. 18.7), e também em algumas variedades de *Chrysanthemum*, quando satisfeitas suas necessidades de dia curto.

Em milho, por exemplo, observa-se de maneira incisiva o efeito da temperatura do ar no ciclo e nas fases fenológicas das plantas. A temperatura do ar é percebida e acumulada na planta como uma soma térmica, expressando a quantidade de energia neces-

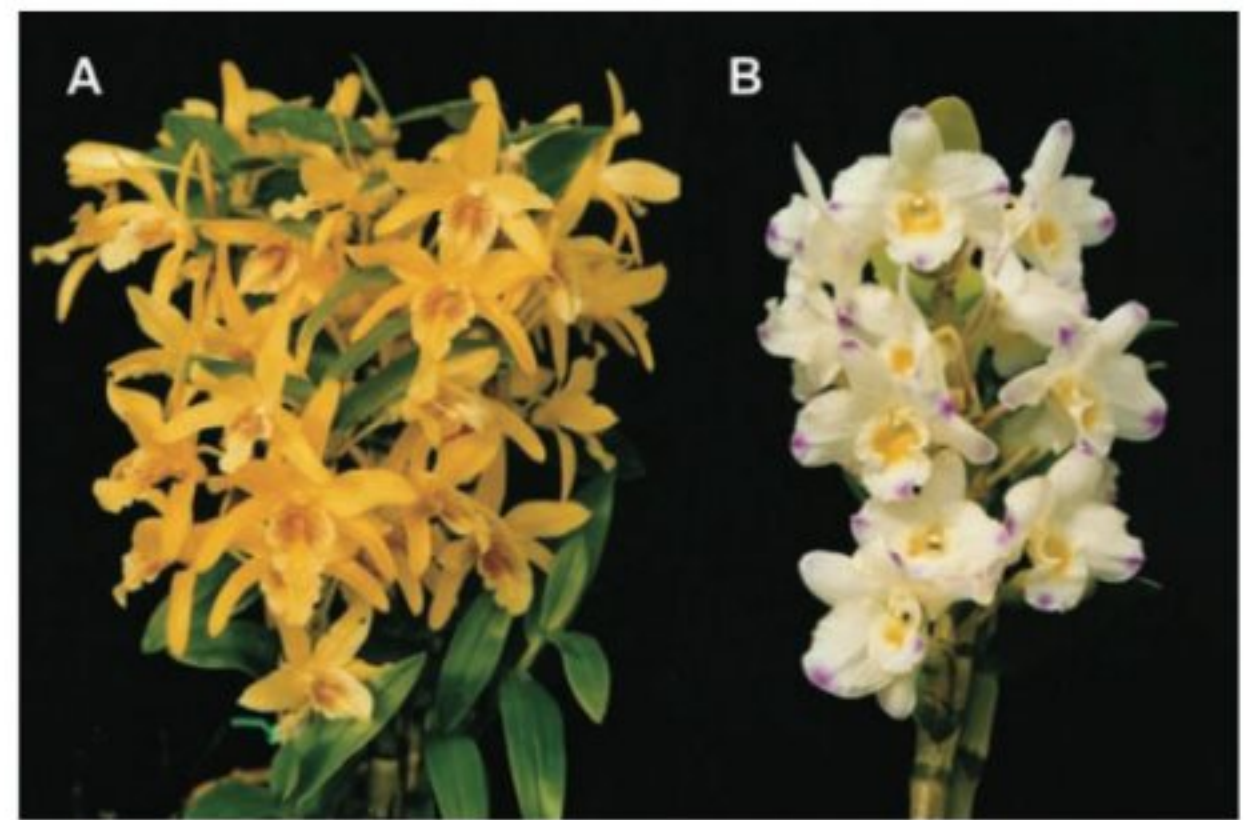


FIGURA 18.7

Floração de A. *Dendrobium* Stardust e B. *Dendrobium* Second Love, após tratamento de frio (10°C no período de escuro e 25°C no período luminoso). A quantificação dos hormônios endógenos evidenciou níveis elevados de citocininas durante a indução floral. (Mestrado de Kátia O. Campos, Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP, 2000.)

sária para atingir um certo estágio de maturidade. O conhecimento das exigências térmicas em algumas culturas contribui para a previsão da duração do ciclo da planta em função dos fatores ambientais, sendo um parâmetro relevante nos processos de otimização e redução de riscos climáticos em plantios comerciais.

UMIDADE

Nas regiões tropicais e em regiões áridas ou semi-áridas, o período de seca e o de disponibilidade de água são fatores decisivos para o crescimento e floração de algumas espécies. Nos trópicos do hemisfério sul, a chegada da estação das chuvas coincide com o início da primavera, representado por dias ligeiramente mais longos e temperaturas mais elevadas, configurando sinais ambientais para a retomada do crescimento das plantas.

Dentre as plantas de interesse comercial que têm sua floração afetada pela umidade, podem-se destacar como exemplo o citro e o cafeeiro. No caso das plantas cítricas cultivadas em regiões tropicais, o déficit hídrico pode substituir o efeito de temperaturas baixas na promoção da floração. Já as plantas de café devem ser submetidas a certo estresse hídrico para quebrar a dormência das gemas florais já formadas, as quais irão se desenvolver apenas após o fornecimento de água, por irrigação ou chuva. Esses déficits hídricos internos podem variar de -0,8 MPa a -2,65 MPa em cafeeiros no Havaí, mas para o Brasil, foi registrado um limiar de potencial de água nas folhas de -1,2 MPa para a ocorrência da floração em resposta à irrigação. A sincronização da floração em cafeeiros pela imposição de um déficit hídrico, seguido de irrigação, além de sincronizar a produção, reflete também na qualidade da bebida.

**FIGURA 18.8**

Efeito do fogo na floração. A. Aspecto de uma queimada no cerrado. B. Planta de *Calea cuneifolia* florescendo após a passagem do fogo. C. Floração pós-fogo em *Lantana montevidensis*. (Fotos: Leopoldo Coutinho.)

Em algumas espécies, o fato de a remoção das raízes promover a floração sugere que, além dos estresses hídrico e nutricional, esses órgãos poderiam ser responsáveis pela produção de um ou mais inibidores florais. Porém, as raízes também podem produzir promotores florais, como citocininas e giberelinas.

FOGO

No cerrado brasileiro, é comum observarmos o estímulo ou indução da floração de muitas espécies herbáceas e subarbus-tivas após a passagem do fogo. O efeito do fogo nem sempre é devido ao estímulo térmico, mas é a eliminação total da parte aérea das plantas que as faz florescer.

A resposta floral ao fogo tem um papel importante na sincronização da floração, viabilizando a polinização cruzada. É o chamado piroperiodismo, ou a sincronização do processo pelo efeito do fogo. Na ausência da queima, pode não ocorrer o florescimento ou este se dá de maneira esporádica e em baixa intensidade.

Lantana montevidensis e *Calea cuneifolia* são exemplos de espécies de cerrado que florescem após a queimada (Fig. 18.8). Plantas de sapé (*Imperata brasiliensis*) florescem apenas após sofrerem queima de seus órgãos aéreos, num processo ainda não completamente elucidado.

Fatores endógenos

Acredita-se que a passagem para a fase reprodutiva viria acompanhada por modificações profundas nas relações fonte e dreno das plantas, representadas pela canalização de assimilados para os meristemas. Esses eventos ocorreriam anteriormente à morfogênese e dependeriam ainda da habilidade dos tecidos meristemáticos de importar assimilados essenciais às divisões celulares e à manutenção da atividade metabólica.

Sacarose, citocininas e nutrientes têm sido considerados componentes importantes do estímulo floral ou sinalizadores da floração, e a presença dessas substâncias em concentrações ótimas seria necessária à atividade gênica específica junto ao meristema vegetativo.

NUTRIÇÃO

Os mecanismos de controle da floração por meio da nutrição mineral são bastante variáveis entre as espécies ou gêneros e ainda pouco compreendidos, podendo intermediar alterações nos teores endógenos dos hormônios vegetais ou dos fotoassimilados. A partição de carboidratos e nitrogênio nos órgãos de uma planta é intensamente controlada e integrada durante o seu crescimento e desenvolvimento, podendo ser modificada em determinados momentos, como o da floração, associada a um estado metabólico e energético capaz de manter a formação e o desenvolvimento das flores, frutos e sementes.

Para algumas espécies, a duração do período juvenil é mais longa sob condições promotoras de crescimento vigoroso. A floração na mangueira, por exemplo, está associada à diminuição do crescimento vegetativo, induzida pelo frio em condições de clima subtropical, pelo estresse hídrico em clima tropical e pela aplicação de paclobutrazol, um inibidor da síntese de giberelinas, nos cultivos comerciais no semi-árido brasileiro.

A hipótese de que os processos de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo poderiam ser antagônicos devido à competição pela partição de assimilados é bastante antiga, baseada nas observações de redução na taxa de crescimento em algumas plantas induzidas à floração.

Tanto a deficiência quanto o excesso de nutrientes minerais fornecidos em certos períodos críticos do desenvolvimento podem refletir em limitações na capacidade dos drenos. Para algumas espécies, a transição floral, assim como as demais etapas do desenvolvimento reprodutivo, é favorecida por um balanço carbono/nitrogênio (C/N) quantitativamente favorável ao primeiro, implicando, portanto, numa diminuição da adubação nitrogenada. Em algumas plantas, a utilização de nitrato foi associada à inibição da floração, porém, para outras espécies, o favorecimento desse processo foi observado. Na produção de sementes híbridas de sorgo, a sincronização da floração entre os parentais macho e fêmea pode ser controlada por meio da aplicação de adubação nitrogenada, uma vez que esta resulta numa aceleração do crescimento vegetativo e da emissão da panícula, com a antecipação do florescimento.

De um modo geral, a adubação rica em fósforo favorece a floração. A limitação desse nutriente pode interferir na formação dos órgãos reprodutivos, ocasionando um atraso na iniciação floral, decréscimo no número de flores e, particularmente, uma restrição na formação de sementes.

Plantas de mostarda (*Sinapis alba*) induzidas à floração apresentaram teores elevados de cálcio no xilema e nas gemas florais. Atribui-se ao Ca^{2+} uma função de segundo mensageiro na regulação de numerosos processos celulares importantes, como a mitose, e na transdução de sinais entre o ambiente e as plantas, muitos deles intermediados pelo fitocromo. Na floração de *Sinapis alba*, esse cátion estaria associado à divisão celular induzida por citocinina, ou atuaria como substância sinalizadora do transporte da sacarose entre o caule e a raiz.

AÇÚCARES

A participação dos carboidratos no controle da floração tem sido sugerida há várias décadas, porém sua exata contribuição nesse processo ainda não foi bem estabelecida. Enquanto, para muitos pesquisadores, os açúcares atuam apenas como fonte energética durante a iniciação floral, outros autores sugerem um papel regulador no metabolismo celular, possivelmente em nível de expressão gênica ou como molécula mensageira. Essas substâncias estariam envolvidas em mecanismos específicos de sinalização entre células, porém ainda são pouco conhecidos os processos de percepção e de transdução desses sinais.

Teores elevados de açúcares estariam envolvidos na transição do meristema vegetativo para o reprodutivo, desempenhando, portanto, um papel estratégico nesse processo. Resultados consistentes na literatura sugerem que concentrações ótimas de açúcares devem ser fornecidas ao meristema em intervalos de tempo bastante definidos, anteriores aos eventos bioquímicos e celulares que ocorrem durante a diferenciação do meristema floral.

Alguns trabalhos têm apontado a sacarose como um dos componentes essenciais do sinal floral. Aumentos pronunciados nos teores desse açúcar foram observados nos meristemas apicais de plantas de *Sinapis alba*, *Lolium temulentum*, *Xanthium* e *Arabidopsis thaliana* induzidas à floração, previamente à atividade mitótica, sugerindo um papel sinalizador da sacarose. Durante a indução floral em plantas de *Sinapis*, esse açúcar também seria ativo no sistema radicular, desempenhando um papel tão crítico quanto sua ação no caule, promovendo o fluxo de citocininas ou de outras substâncias da raiz para o caule. Além do floema, nesse caso, o xilema também seria essencial para a indução floral, estimulando a exportação e o acúmulo desses hormônios no meristema.

A sacarose transportada ao meristema durante a transição floral poderia resultar da mobilização de carboidratos de reserva. Entretanto, poucos estudos têm sido realizados sobre a interação entre a floração e o metabolismo do amido.

Por outro lado, a elevação nos teores de açúcares no meristema caulinar por si só não é suficiente para a indução floral, indicando a participação de outros compostos, de maneira integrada e aditiva durante esse processo.

HORMÔNIOS VEGETAIS

Tem sido sugerido o envolvimento dos hormônios vegetais, tanto quantitativa quanto qualitativamente, na indução floral, atuando possivelmente via regulação da expressão gênica.

Citocininas

A promoção da floração após tratamentos com citocininas foi observada em várias plantas. A aplicação de benziladenina (6-BA), uma citocinina, tem sido utilizada no cultivo de plantas orquídeas como *Aranda*, *Dendrobium*, *Aranthera* e *Oncidium*, visando o controle e a sincronização da floração em produções comerciais. Entretanto, as citocininas devem ser empregadas em concentrações ótimas, pois teores elevados exercem efeitos inibitórios sobre a floração em algumas espécies. A concentração ótima varia conforme a fase de desenvolvimento, a sensibilidade dos tecidos vegetais e a presença de outros hormônios endógenos e exógenos, sugerindo uma interação com outras vias de sinalização.

Diversos estudos apontam para o envolvimento das citocininas livres e conjugadas como sinalizadoras da floração junto às células meristemáticas (ver Cap. 10, Citocininas). Modificações nos teores desses hormônios na planta, pelo aumento na biossíntese ou na taxa de exportação, alterariam seus conteúdos no meristema caulinar. Portanto, o fluxo entre raiz e caule, com a transferência de sinais entre esses órgãos, e a síntese *de novo* desses hormônios na planta desempenham papéis importantes na floração.

Uma elevação nos teores endógenos de citocininas foi observada nos meristemas induzidos de *Chenopodium rubrum* e *Chenopodium murale*, assim como um aumento nas concentrações de zeatina (Z) nas raízes e de isopenteniladenina (iP) nas folhas e no ápice caulinar de plantas de *Sinapis alba* durante a indução fotoperiódica. Entretanto, o oposto foi verificado em plantas de tabaco, ou seja, uma diminuição nos teores de citocininas nos meristemas caulinares durante a transição floral, enquanto um aumento progressivo desses hormônios foi detectado durante a formação dos órgãos reprodutivos, caracterizados por uma intensa atividade mitótica e meiótica.

Apesar de serem necessárias as alterações no conteúdo endógeno de citocininas para a estimulação de divisões celulares e controle do ciclo celular durante a organogênese, esses hormônios não seriam suficientes para causar a indução floral, havendo ainda dúvidas sobre sua ação como reguladores positivos da transição do meristema vegetativo para o floral, ou seja, da evocação floral *sensu stricto*.

Auxinas

Estágios particulares da floração também poderiam ser mediados pelos teores endógenos de auxinas. Porém, tanto seus efeitos promotores quanto inibitórios sobre a indução floral têm sido amplamente relatados na literatura. Enquanto a iniciação das gemas florais em várias espécies tem sido associada a uma diminuição nos teores de ácido indolilacético (AIA) livre e a um aumento na concentração das formas conjugadas, durante

a diferenciação floral foi observado o oposto, ou seja, a hidrólise do hormônio conjugado, liberando AIA livre.

Porém, o balanço entre auxinas e citocininas, e não somente seus teores absolutos, tem se mostrado de importância fundamental em diversos processos fisiológicos, atuando sobre o crescimento e a diferenciação celular. Nesse sentido, a relação entre esses dois hormônios poderia também estar associada à floração.

Giberelinas

As giberelinas representam a classe hormonal cujos efeitos promotores sobre a floração foram mais bem estudados, principalmente nas plantas em roseta (entrenós curtos) e nas plantas induzidas à floração por baixas temperaturas ou fotoperíodos longos. Para estas últimas, o comprimento dos dias induziria um aumento nos teores endógenos de giberelinas ou uma maior sensibilidade a esses hormônios, atuando em sinergia com outros sinais florais na promoção da floração. Entretanto, a ação das giberelinas poderia estar mais diretamente associada à promoção do alongamento do caule, importante para a floração de algumas plantas em roseta, e não necessariamente à indução desse evento.

Apesar de as giberelinas não promoverem a floração na maioria das plantas de dia curto, teores mais elevados de ácido giberélico (AG) também foram observados durante a transição floral de plantas de *Pharbitis nil* cultivadas sob dias curtos, indutores da floração nessa espécie, sugerindo a participação adicional desses hormônios nos processos controlados pelo fitocromo.

Porém, a importância das giberelinas no sistema de sinalização e controle da iniciação floral ainda é difícil de ser estabelecida, sendo sua eficiência dependente da espécie, da época de aplicação e do tipo de giberelina (ver Cap. 11, Giberelinas).

As giberelinas têm sido extensivamente aplicadas na viticultura, uma vez que promovem o abortamento de algumas flores no início do desenvolvimento da inflorescência, dispensando a operação de desbaste, necessária para a obtenção de cachos mais soltos, demandados pelo mercado.

Ácido abscísico

A floração de algumas plantas também foi verificada sob condições estressantes ou inibitórias do crescimento induzidas, por exemplo, pela aplicação de ácido abscísico (ABA). Um aumento na concentração desse hormônio foi observado em gemas de macieiras induzidas à floração, tendo sido relacionado aos teores mais elevados de açúcares no vacúolo e, portanto, a uma maior força-dreno. Porém, os resultados relatados na literatura não são suficientemente claros para relacionar esse hormônio à floração.

Etileno

Não obstante seja bem conhecido e aplicado comercialmente, o fato de induzir uma rápida formação de flores em bromélias, como no abacaxizeiro (*Ananas comosus*) e outras espécies ornamentais, o etileno exerce um efeito inibitório sobre a floração da maioria das outras plantas.

O efeito negativo do etileno na expansão das pétalas (e, portanto, na antese) tem sido observado em várias espécies. Grande parte dos estudos referentes aos efeitos desse hormônio sobre a floração está associada à senescência das flores e direcionada para a utilização de substâncias bloqueadoras da biossíntese ou ação desse gás, como o nitrato e o tiosulfato de prata e o permanganato de potássio.

HIPÓTESES SOBRE A NATUREZA DO SINAL FLORAL

A identificação dos sinais florais representa uma das grandes questões da botânica, tendo as pesquisas se pautado, via de regra, na comparação de componentes endógenos de plantas induzidas e não induzidas à floração. Amostras do conteúdo do xilema das raízes e dos solutos do floema extraídos de folhas maduras e do ápice caulinar têm sido freqüentemente utilizadas nesses estudos.

O estímulo floral seria aparentemente transportado via floema, sendo as taxas de transporte de solutos em relação às respostas florais consistentes com a existência de uma mensagem transmissível de natureza química, e não simplesmente um fenômeno físico, baseado em alterações no potencial elétrico de membranas.

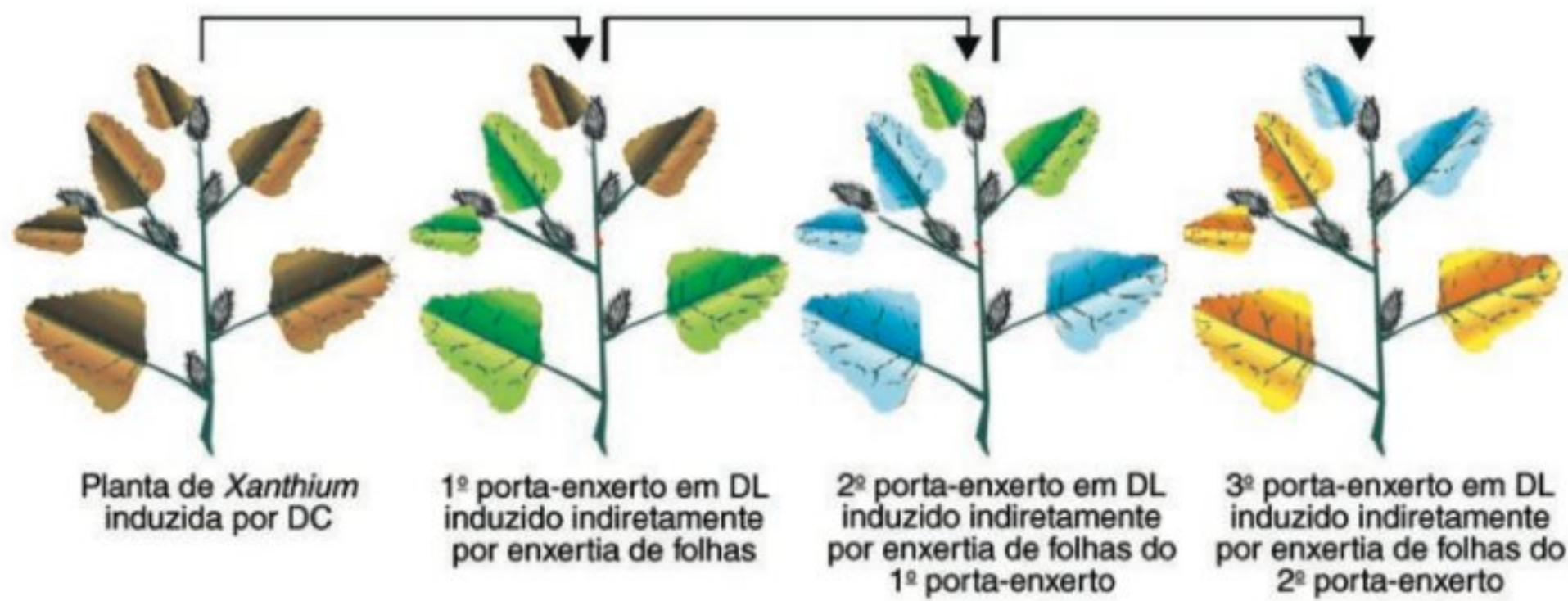
Em termos fisiológicos, foram propostos alguns modelos objetivando explicar a transição floral, dos quais destacam-se três: o do florígeno e as hipóteses nutricional e multifatorial.

A idéia de que a floração estaria sob o controle de substâncias produzidas nas folhas foi inicialmente proposta por Julius von Sachs em 1865, como resultado de seus trabalhos com *Tropaeolum majus* e *Ipomoea purpurea*.

Porém, o termo florígeno representando uma substância específica com função regulatória indutora da floração, tal como um hormônio vegetal universal “formador de flores”, foi elaborado por Mikhail Chailakhyan em 1936, com experimentos de enxertia entre espécies de Crassulaceae. Segundo o autor, a floração de plantas fotoperiodicamente distintas (PDC, PDL, PDN etc.), não induzidas e enxertadas com ramos reprodutivos de espécies ou gêneros próximos sugeria a transmissão de substâncias ou sinais florais através do floema, após a conexão dos tecidos vegetais. Portanto, este produto final da indução fotoperiódica seria fisiologicamente equivalente nessas plantas.

Os estudos de enxertia demonstraram que quando a folha de uma planta que está florescendo é enxertada em uma planta não-induzida, é capaz de induzi-la a florescer. Este processo é denominado de indução secundária. Se a folha de uma planta em flor de *Xanthium strumarium* (induzida por DC) for enxertada em uma planta que está em DL, portanto em estado vegetativo, esta última também florescerá. Uma nova folha desta planta, agora em flor, enxertada em outra planta em DL promoverá também a floração desta última, e assim sucessivamente, conforme ilustrado na Fig. 18.9.

Alguns trabalhos evidenciaram que, dependendo do tratamento fotoperiódico e do tipo de resposta da planta, as folhas podem

**FIGURA 18.9**

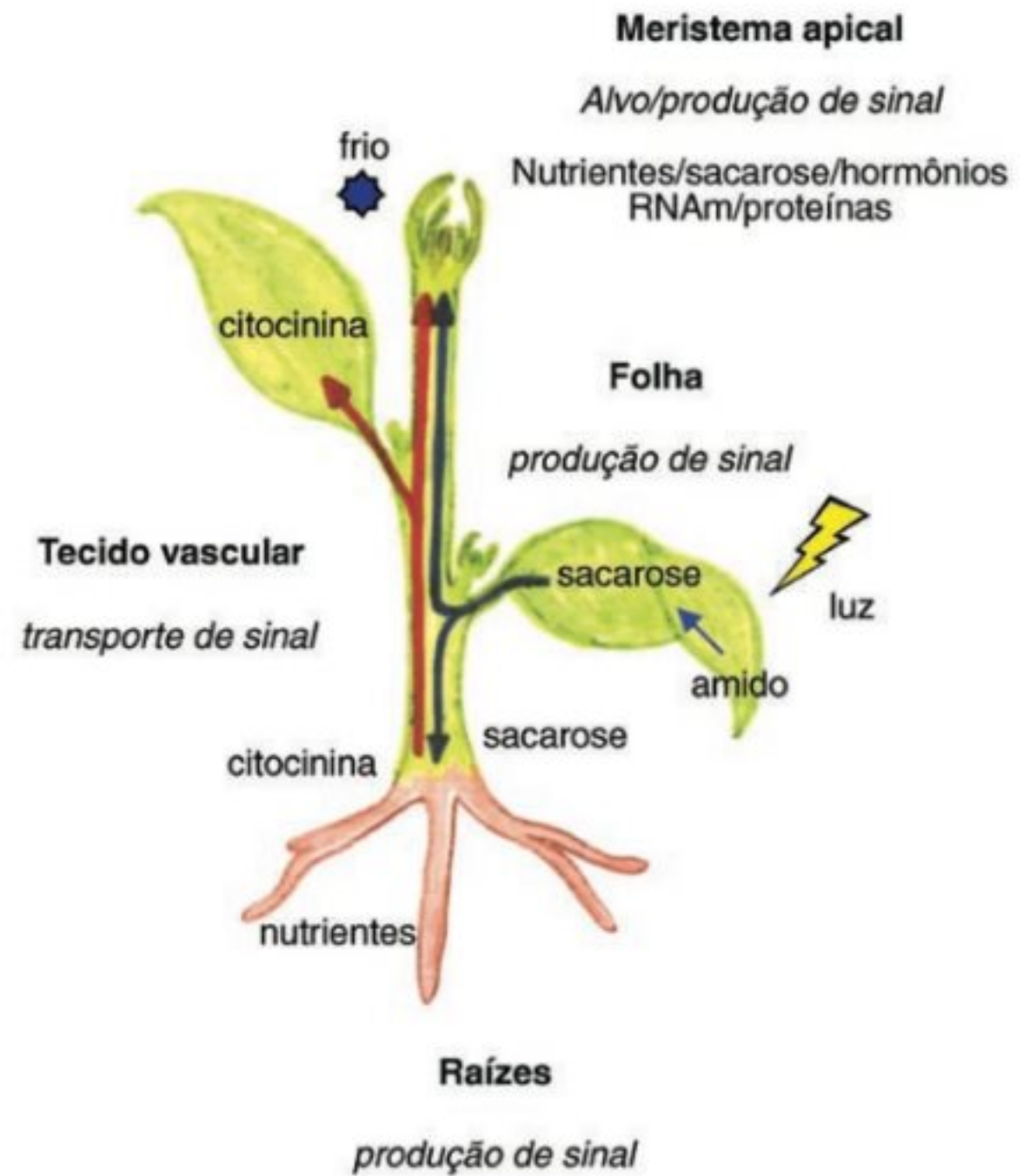
Experimentos de enxertia com *Xanthium strumarium*, demonstrando a transmissão do sinal de floração, por indução indireta. Nesta espécie as folhas de plantas induzidas em DC são capazes de promover a floração em plantas mantidas em DL. (Lang, 1965, modificada.)

produzir tanto promotores como inibidores de floração. Assim, *Hyoscyamus niger* e *Nicotiana sylvestris*, ambas PDL, podem florescer sob DC quando suas folhas são retiradas. Quando partes dessas plantas foram enxertadas em PDN e mantidas em dias curtos, as plantas neutras foram incapazes de florescer. Portanto, essas PDL podem ter produzido alguma substância inibidora de floração que também foi transmitida para as PDN. Chailakhyan chamou de antiflorígeno esta substância transmissível, inibitória da floração, que interferiria sobre a síntese, transporte e ação do sinal floral.

Apesar do direcionamento de muitas pesquisas ao isolamento e à identificação do florígeno e do antiflorígeno, até os primeiros anos do século XXI nenhuma molécula química havia sido identificada com a característica de um hormônio floral.

A não-identificação do florígeno resultou na elaboração do segundo modelo, centralizado no *status* nutricional da planta, sugerido por Roy Sachs & Hackett, em 1969, e revisada posteriormente, em 1983. Os tratamentos indutores promoveriam alterações na partição de nutrientes entre órgãos-fontes e drenos, responsáveis por uma disponibilidade maior de assimilados no ápice caulinar durante a indução floral. De fato, foi verificado experimentalmente que, após a indução floral, ocorria um fluxo maior de carboidratos para o meristema apical. No entanto, apenas um balanço favorável de carboidratos é insuficiente para desencadear os processos morfogênicos de transição de um ápice vegetativo para o reprodutivo. A participação de açúcares e compostos nitrogenados na floração, ou seja, a relação C/N, já havia sido sugerida por Georg Klebs, em 1918, e por Anton Lang, em 1965.

A idéia de que os assimilados não seriam os únicos componentes importantes na transição floral foi proposta por Georges Bernier e cols., em 1981, os quais sugeriram que a floração estaria sob um controle multifatorial. Fatores químicos promotores e inibitórios, dentre os quais metabólitos e hormônios conhecidos, e até mesmo o transporte de RNAm específicos, seriam induzidos por uma ampla gama de estímulos ambientais e atuariam em conjunto nos vários órgãos da planta (Fig. 18.10). Independen-

**FIGURA 18.10**

Modelo simplificado de alguns possíveis componentes da indução floral, segundo a hipótese multifatorial da floração. Além de estímulos internos intrínsecos à planta, as folhas e os meristemas caulinares são responsáveis pela percepção do estímulo externo (luz e temperatura), promovendo a formação e a exportação via floema dos sinais florais (por exemplo, sacarose). Os sinais florais produzidos nas folhas podem ser transportados diretamente para o meristema caulinar ou induzir, nas raízes, a produção e o transporte de outras substâncias (por exemplo, citocininas e nutrientes). Quando o conjunto de sinais florais, tanto de folhas quanto de raízes, atinge o meristema caulinar de uma planta num estágio competente à floração, inicia-se a transição floral.

dentemente da diversidade dos processos indutores, a floração seria resultante de um balanço entre essas substâncias promotoras e inibitórias, necessárias no ápice caulinar no tempo e na concentração apropriados, e reguladas por diferentes mecanismos: condições ambientais particulares, alterações na produção e no transporte dos sinais florais e modificações na sensibilidade do meristema. Sendo o sinal floral composto por várias substâncias, o componente limitante da floração poderia variar entre as espécies, assim como ser substituído por outra substância disponível em maior concentração.

Apesar dos intensos estudos sobre a indução floral nos últimos 100 anos, pouco se conhece sobre a cascata de eventos que conecta a percepção do estímulo indutor à transmissão do sinal floral produzido nas diferentes partes da planta até o meristema caulinar. Entretanto, ao mesmo tempo em que se limitaram as abordagens fisiológico-bioquímicas, houve um avanço importante nos estudos moleculares da floração, tal como descrito mais adiante neste capítulo. Porém, definir as bases bioquímicas da floração continua a ser um dos grandes desafios da Fisiologia Vegetal.

EVOCÇÃO FLORAL

Após a indução floral, os eventos localizados especificamente no meristema caulinar vegetativo que resultam na formação das flores são coletivamente denominados de evocção floral. Portanto, a evocção floral representa o momento em que o meristema se reorganiza para a produção das flores, em vez das folhas. Apesar dos intensos esforços já efetuados, ainda não se conseguiu delinear um modelo no qual fosse possível ser considerada uma descrição completa de todos os eventos moleculares, fisiológicos, anatômicos e morfológicos associados à conversão do meristema vegetativo em reprodutivo. Tal situação torna a compreensão da evocção floral ainda mais complexa do que a da indução floral.

Os estágios vegetativo, pré-floral e floral do meristema são reconhecidos como fases de um processo único, contínuo e integrado. A principal distinção entre as fases juvenil e adulta vegetativa é a competência do meristema caulinar para florescer quando fornecido um estímulo indutor apropriado. A capacidade ou competência reprodutiva do meristema caulinar pode estar relacionada à sua idade ou ao tamanho da planta, representando um ponto importante no controle da taxa de crescimento vegetativo (Tabela 18.2).

Enquanto diversas espécies de bambu e plantas arbóreas como a jabuticabeira necessitam de vários anos para florescer, plantas de *Pharbitis nil* e *Chenopodium rubrum* podem ser induzidas à floração ainda no estágio de cotilédone e com apenas um ciclo fotoindutor. Em outras espécies, a duração da fase juvenil aparentemente está associada à formação de um número mínimo de folhas, como, por exemplo, no picão *Bidens pilosa* e em *Stevia rebaudiana*, que florescem apenas com 3 e 4 folhas, respectivamente. Mesmo plantas herbáceas, como certas orquídeas epífitas (*Cattleya*, *Laelia*, *Vanda*), podem demandar

TABELA 18.2
Duração média da fase juvenil em algumas plantas

Planta	Duração média da fase juvenil
<i>Glycine max</i> (soja)	11 – 33 dias
<i>Zea mays</i> (milho)	50 – 70 dias
<i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão)	30 – 60 dias
<i>Oryza sativa</i> (arroz)	120 – 150 dias
<i>Rosa</i> spp. (roseira)	20 – 30 dias
<i>Phalaenopsis</i> (phalaenopsis)	1 – 3 anos
<i>Vitis</i> spp. (videira)	2 – 4 anos
<i>Malus</i> spp. (macieira)	4 – 8 anos
<i>Citrus</i> spp. (laranjeira, limoeiro)	5 – 8 anos
<i>Pyrus pyrus</i> (pereira)	7 – 12 anos
<i>Caesalpinia echinata</i> (pau-brasil)	4 anos
<i>Cedrela odorata</i> (cedro-rosa)	10 anos

vários anos de crescimento vegetativo antes de se tornarem competentes à floração.

A produção de mudas enxertadas, especialmente no caso de frutíferas em que o material propagativo das cultivares-copa de interesse comercial oriundo de plantas adultas e competentes à floração é unido aos porta-enxertos, representou um avanço importante na redução do tempo necessário para o florescimento e, portanto, para a colheita dos frutos. No caso de espécies cítricas, por exemplo, enquanto plantas enxertadas florescem após 2 ou 3 anos, as plantas de pé-franco não enxertadas florescem apenas aos 7 ou 8 anos de idade.

A evocção floral se dá com a diferenciação morfológica e funcional de todas as células do meristema. O ápice vegetativo como um todo entra em uma nova fase de desenvolvimento, resultando em alterações fisiológicas e histológicas graduais, interdependentes dos eventos que ocorrem nas raízes, nas folhas e no caule. Vários estudos associam a transição floral a um aumento na taxa respiratória, assim como a modificações na síntese de RNA e proteínas, sugerindo uma alteração na expressão gênica previamente ao estímulo das divisões celulares.

Entretanto, a detecção de processos de reversão floral ainda nos estágios iniciais da evocção floral, com a formação de folhas consecutivamente às flores, indica que os meristemas caulinares não são irreversivelmente determinados para o desenvolvimento reprodutivo. Portanto, a ativação de genes e processos envolvidos na transição floral é necessária tanto para a iniciação quanto para

**FIGURA 18.11**

Eventos associados à transição do meristema caulinar vegetativo em meristema floral.

a manutenção do desenvolvimento reprodutivo. A reversão floral está geralmente associada a condições ambientais opostas àquelas indutoras da floração e, apesar de ser um evento incomum, em algumas plantas como em roseiras, alguns mutantes de *Arabidopsis* e *Impatiens balsamina*, esse processo é bastante observado. Nessas últimas plantas, a produção contínua de um sinal floral nas folhas é crítica para a manutenção do estado floral, sugerindo um controle externo ao meristema caulinar e um comprometimento da planta como um todo com a via floral. Em espécies de plantas menos suscetíveis à reversão floral, postula-se que esses sinais sejam constantes e que, quando ausentes, não impedem a autonomia do meristema.

Impedir a reversão floral é particularmente importante nas plantas anuais, sendo fundamental a distinção entre os sinais indutores apropriados daqueles chamados “ruídos ambientais”, tais como alterações repentinas de temperatura que não refletem em mudanças sazonais reais.

Uma vez que as células do meristema caulinar atingem um ponto sem retorno no programa de desenvolvimento, comprometendo-se em definitivo com a formação das flores, diz-se que as mesmas encontram-se determinadas para a floração, seguindo nesse novo processo, mesmo na ausência do estímulo indutor inicial (Fig. 18.11).

Assim, a transição do estágio vegetativo para o floral está associada inicialmente à aquisição de competência das células meristemáticas caulinares. Pela ativação de vários genes associados à percepção do estímulo indutor, há a produção e o transporte de sinais originados fora do meristema. A sensibilidade desse meristema aos sinais florais culmina na sua determinação para uma nova via de desenvolvimento, com a iniciação e formação dos órgãos florais.

DESENVOLVIMENTO FLORAL

O meristema inicialmente vegetativo, uma vez determinado para a floração, segue esse novo programa de desenvolvimento, mesmo na ausência do estímulo indutor, culminando com a expressão floral (início da diferenciação do primórdio floral).

A formação das flores é um processo que compreende a definição da época adequada e do local correto para a iniciação do primórdio floral, além da determinação do meristema e o desenvolvimento dos órgãos florais, segundo um padrão específico.

Morfologicamente, o meristema reprodutivo é facilmente distinguível do meristema vegetativo pelo seu tamanho maior. Também evidenciam-se duas etapas fisiologicamente distintas: a iniciação e o desenvolvimento floral (Fig. 18.12).

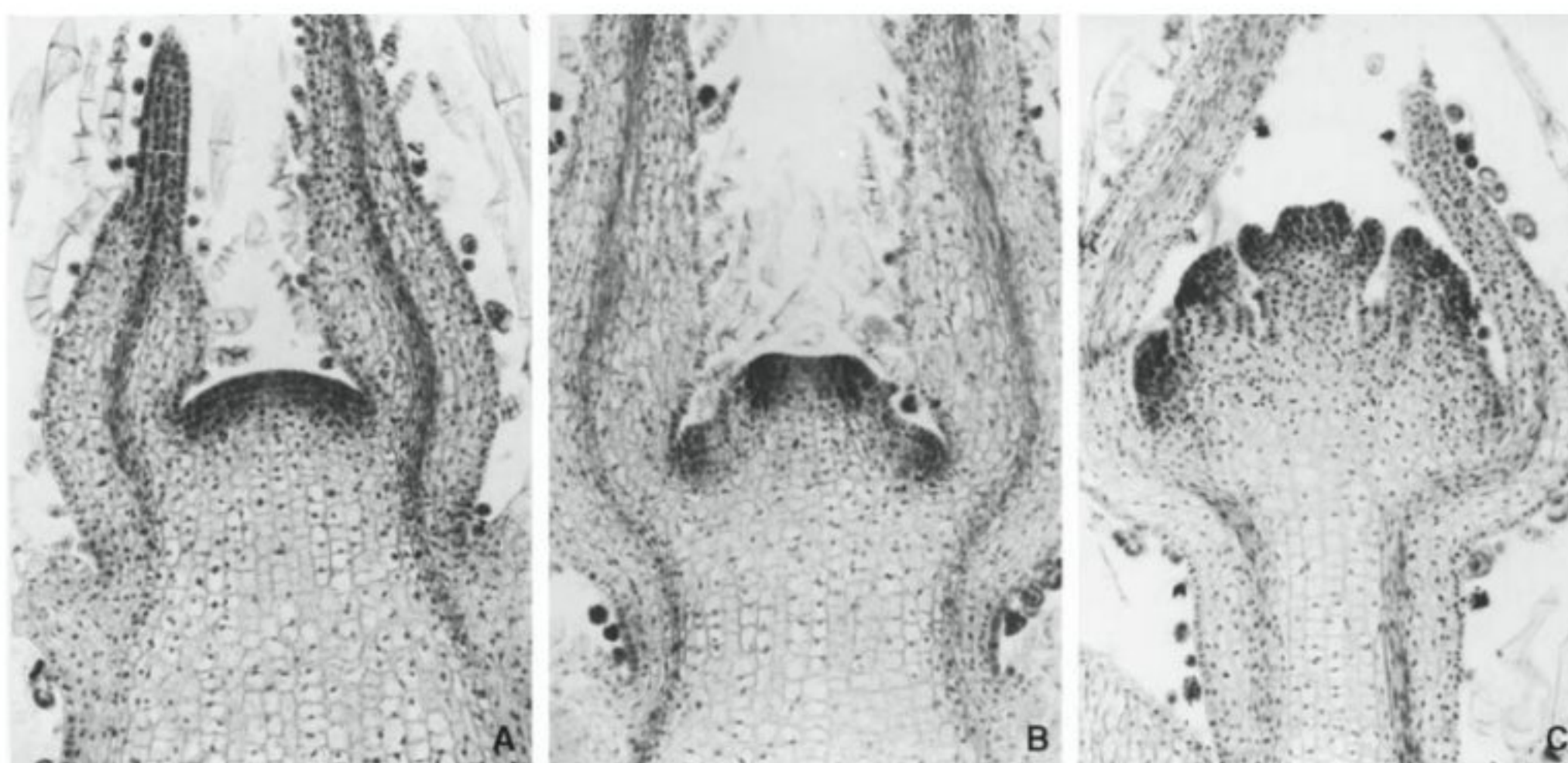
A iniciação floral está associada ao aumento da atividade mitótica nos limites da região meristemática das gemas apicais e/ou axilares, atingindo posteriormente a zona central da célula-mãe, que se torna menor, apresentando protoplasma denso. Após esse evento, a atividade mitótica e o crescimento praticamente cessam, desenvolvendo-se um tecido parenquimatoso envolto por células meristemáticas, onde, num segundo pico de atividade mitótica, serão formados os órgãos florais: sépalas, pétalas, estames e carpelos, representando uma complexa interação entre estruturas funcionalmente especializadas e completamente distintas da planta vegetativa.

Em geral, a produção dos órgãos florais se dá em posição e número precisos, formando os verticilos, que são anéis concêntricos ao redor do meristema (Fig. 18.13), porém algumas plantas, como as em roseta, por exemplo, não seguem esse padrão. Apesar do número quase infinito de variações, a estrutura básica das flores é relativamente simples, constituída, fundamentalmente, de um ramo com nós e entrenós curtos e uma série de apêndices que são folhas modificadas.

De maneira distinta dos meristemas vegetativos, os meristemas florais são determinados, cessando sua atividade meristemática depois da produção do último órgão floral.

ASPECTOS MOLECULARES

O isolamento e a caracterização de mutantes com respostas florais distintas têm se tornado a principal fonte de resultados e avanços nos estudos da floração, especialmente em trabalhos com a PDL facultativa *Arabidopsis thaliana*. Nesta planta, foram identificadas

**FIGURA 18.12**

Cortes longitudinais da região apical caulinar de *Hyptis brevipes*. A. Meristema vegetativo, responsável pela formação dos primórdios foliares. B. Meristema reprodutivo em início de desenvolvimento. C. Meristema floral em estágio avançado de desenvolvimento, com a diferenciação dos primórdios de flores distribuídos na periferia do ápice. (Doutorado de Lílian Beatriz Pentead Zaidan, UNICAMP, 1987.)

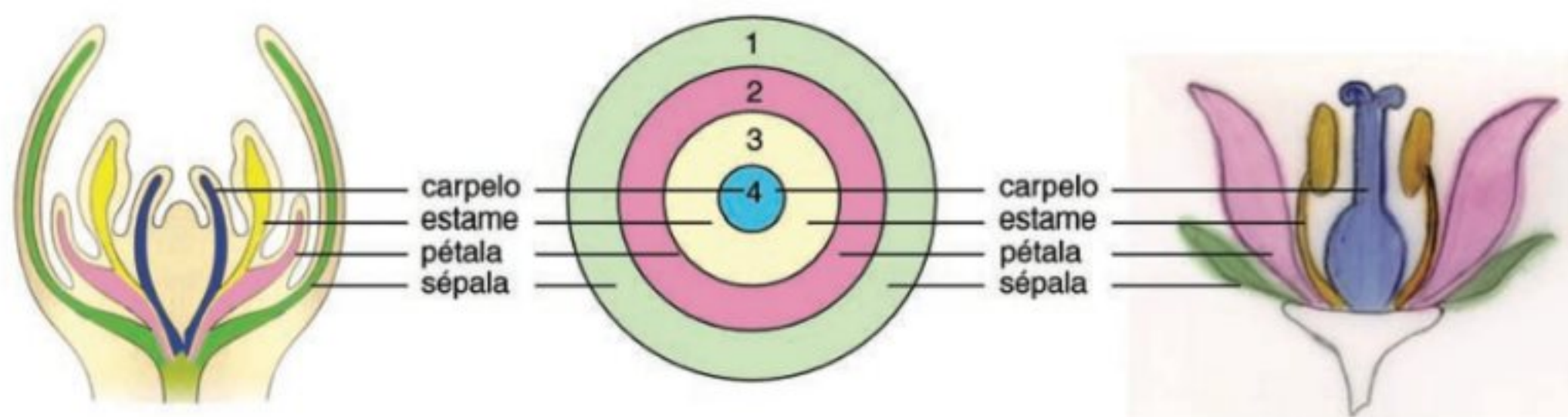
até o momento quatro vias promotoras da transição floral: por meio do fotoperíodo, da vernalização, das giberelinas e pela regulação autônoma (Fig. 18.14).

Os mecanismos de promoção direta da floração, induzidos pelo fotoperíodo e por giberelina, são antagônicos à atividade de genes induzidos pelo frio ou regulados pela via autônoma, os quais promovem a floração pela inibição do gene *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*), um repressor floral central. Os componentes da via autônoma apresentam um padrão de expressão bastante amplo, sendo seus RNA mensageiros detectados em praticamente todos os órgãos da planta. Não há evidências de que sejam regulados por fotoperíodo, temperatura ou mesmo pelos próprios genes autônomos. A identificação dos sinais internos que regulam a via autônoma permanece desconhecida.

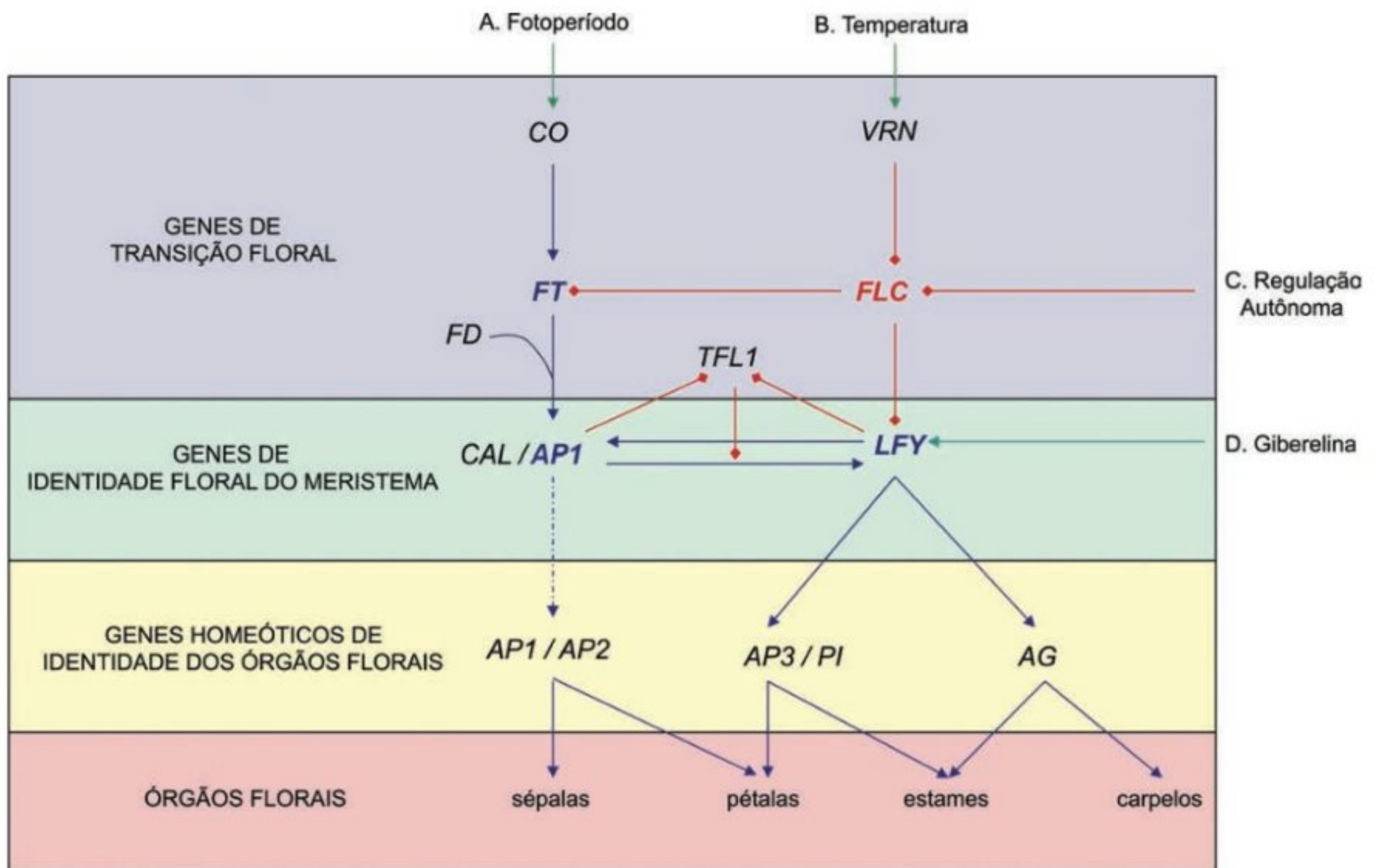
Também foram identificados outros genes repressores que podem representar um mecanismo de inibição da floração em

plantas com tamanho ou idade não adequados, controlando, portanto, a duração da fase juvenil. Modificações na metilação do DNA parecem estar associadas à expressão dos genes repressores, alterando a competência e/ou a determinação do meristema. Os genes *FLC*, *TFL1* (*TERMINAL FLOWER 1*) e *EMF* (*EMBRYONIC FLOWER*), este último identificado em fenótipos mutantes que florescem imediatamente após a germinação, representam mecanismos de controle negativo da floração.

De certa forma, os estudos gênicos realizados sustentavam a hipótese multifatorial da floração, uma vez que a floração estaria sob controle de vários genes, envolvidos nos diferentes estágios desse processo, aparentemente organizados de maneira hierárquica, coordenada e seqüencial. Até recentemente, a possibilidade de envolvimento dos genes florais na produção ou resposta a uma substância específica, tal como um florígeno, havia sido constantemente ignorada.

**FIGURA 18.13**

Representação esquemática de uma flor de angiosperma. Os órgãos florais são seqüencialmente produzidos pelo meristema floral, em verticilos sucessivos, iniciando pelas sépalas e progredindo, respectivamente, para pétalas, estames e carpelos, onde é formado o ovário, com a placenta contendo os óvulos.

**FIGURA 18.14**

Possíveis interações moleculares envolvidas na floração de *Arabidopsis*, cuja transição floral é controlada por quatro vias gênicas até então identificadas. A. A indução floral induzida por dias longos é mediada pelo gene *CO* que induz a expressão do gene *FT*, atualmente considerado como um possível produtor do florígeno. A ação conjunta das proteínas dos genes *FT* e *FD* ativa o gene *AP1*. B. O tratamento de frio ativa o gene de vernalização, *VRN*, inibindo a expressão do gene repressor *FLC*. C. Vários genes da via autônoma (*FCA*, *FPA*, *FVE*, *LD FY*, *FLD* e *FLK*) também promovem a floração diminuindo a expressão do gene repressor *FLC*. D. A giberelina é promotora da floração sob condições de dias curtos, porém não substituindo completamente o tratamento fotoperiódico, atuando possivelmente na promoção do gene *LFY*. A expressão dos genes *AP1* e *LFY* confere a identidade floral do meristema e regula a atividade de outros genes homeóticos (*AP3*, *PI* e *AG*), resultando na formação dos órgãos florais.

Promoção →, repressão →◆.

Entretanto, estudos recentes têm apontado para a importância da transcrição do gene *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) nas folhas para a indução da floração. Esse gene é ativado pelo gene *CO* (*CONSTANS*), sob dias longos, e também pela repressão do gene *FLC*, sob baixas temperaturas.

O gene *FT* produz uma pequena proteína que atua junto ao fator de transcrição do gene *FD* (*FLOWERING LOCUS D*), este último expresso apenas no meristema caulinar, ativando o gene *AP1* (*APETALA 1*) que atua tanto como um gene de identidade floral do meristema, como um gene de identidade dos órgãos florais. A atividade do gene *AP1* é considerada como um bom marcador da ocorrência da floração.

O fato de o gene *FT* ser expresso nos tecidos vasculares das folhas, em resposta ao fotoperíodo, e sua proteína promover a expressão gênica no meristema sugere a necessidade do transporte, via floema, de um sinal floral. O movimento de diversas proteínas no floema pode indicar um papel importante dessas

moléculas na sinalização de diferentes processos nas plantas (ver Cap. 6, Transporte no Floema).

Com esses resultados, o conceito do florígeno tem sido retomado após 70 anos, sendo o gene *FT* um forte candidato a essa substância. Uma vez produzido o RNAm do gene *FT*, há um *feedback* auto-regulado que induz sua síntese contínua, mesmo sob condições não indutoras de fotoperíodo, sugerindo características automantenedoras do florígeno.

A hipótese original do florígeno pressupunha que este sinal floral seria transmissível e universal entre as plantas, independentemente de suas respostas fotoperiódicas (*PDL*, *PDC*, *PDN* etc.). A identificação dos genes *HD3A* e *HD1* no arroz, uma *PDC*, ortólogos aos genes *FT* e *CO* em *Arabidopsis*, uma *PDL*, sugere um mecanismo de ação *CO-FT* na resposta floral bastante conservado em algumas espécies. Este sistema de controle também está ativo em plantas arbóreas, além de herbáceas, como tomate e *Brassica napus*. O insucesso na indução

floral observado em alguns experimentos de enxertia poderia ser atribuído não à identidade química do florígeno, no caso a proteína produzida pelo gene *FT* e seus ortólogos, mas sim à sua produção insuficiente, deficiências em seu transporte pelo floema ou a uma rápida degradação nos sítios de recepção desta molécula.

De maneira geral, a floração envolve a atividade de três grupos de genes: o primeiro deles seria representado pelos genes de transição floral, responsáveis pela mudança de fase do meristema vegetativo em meristema reprodutivo, os quais também ativariam os genes do segundo grupo, responsáveis pela identidade floral do meristema. Esses genes, por sua vez, determinam como floral a via de desenvolvimento a ser seguida, levando à formação do meristema floral. No terceiro grupo, encontram-se os genes homeóticos de identidade dos órgãos florais, associados à formação dessas estruturas.

As alterações observadas apenas na composição dos verticilos florais, portanto não envolvidas na iniciação floral, estão associadas a mutações nos genes homeóticos. A grande maioria desses genes nas plantas pertence à família MADS box de fatores transcricionais. Esses fatores transcricionais são proteínas que controlam a expressão de genes de identidade dos órgãos florais, sendo responsáveis pela ativação completa do programa gênico da estrutura da flor e determinando, em última análise, a formação dos órgãos florais propriamente ditos.

Baseados nos estudos com *Arabidopsis thaliana*, esses genes homeóticos foram distribuídos inicialmente em três classes — A, B e C — com atividades distintas, porém interligadas, associadas à produção de fatores transcricionais. O modelo ABC de genes homeóticos, proposto em 1991 por Elliot Meyerowitz e Enrico Coen, foi revisado e atualizado no início da década de 2000, com a inclusão de duas novas classes de genes: D e E.

O modelo ABCDE procura interpretar o padrão de formação dos órgãos florais. As sépalas seriam determinadas pela atividade do gene A no verticilo 1, enquanto as pétalas necessitariam dos genes A e B ativos no verticilo 2. Os estames resultariam da atividade conjunta dos genes B e C no verticilo 3, enquanto os genes C seriam os responsáveis pela formação dos carpelos no verticilo 4. As atividades dos genes A e C seriam mutuamente repressoras. A função D determina o desenvolvimento dos óvulos, enquanto os genes E são necessários para a definição dos verticilos e o desenvolvimento de todos os órgãos florais (Fig. 18.15). O desafio agora reside em se compreender como a expressão dos genes homeóticos altera a atividade dos outros genes nos verticilos em desenvolvimento, resultando na formação de um órgão floral específico.

Os genes homeóticos AG (*AGAMOUS*), *PI* (*PISTILLATA*), *AP1* (*APETALA 1*), *AP2* (*APETALA 2*) e *AP3* (*APETALA 3*) têm padrões de expressão distintos, tanto espacial quanto temporalmente, desempenhando funções diferentes no desenvolvimento dos órgãos florais. A expressão do gene *AP1* é restrita à formação de sépalas e pétalas; a expressão conjunta dos genes *AP3* e *PI* é necessária para o desenvolvimento de pétalas e estames; enquanto o gene *AG* está associado aos carpelos e estames (Fig. 18.14).

A expressão do gene de identidade floral *LFY* (*LEAFY*), em meristemas florais jovens, tem sido observada em várias espécies de angiospermas. Apesar deste gene também ser detectado em tecidos vegetativos, sua atividade é acentuada durante a transição floral. Aparentemente, os sinais oriundos de diferentes vias de indução (fotoperíodo, giberelina e regulação autônoma) apresentam efeitos interativos sobre o promotor desse gene, sendo necessários para a sua máxima expressão. O gene *LFY* atuaria, então, como um integrador central na floração.

O gene *LFY* produz um fator transcricional, apenas identificado no reino vegetal, o qual tem como sítios receptores as regiões regulatórias dos genes homeóticos *AP1*, *AP3* e *AG*. Por outro lado, o gene *TFL1* é um regulador negativo dos genes *LFY*, *AP1* e *CAL* (*CAULIFLOWER*), atuando como um inibidor floral. O gene *CAL* tem seqüência relacionada à do gene *AP1*, dividindo também um padrão similar de expressão.

É interessante notar que o gene *TFL1* tem homologia com o gene *FT*, podendo haver conversão entre eles com a modificação de apenas um aminoácido, porém, até o momento não há evidência de uma molécula que atue como um inibidor floral transmissível.

Muitas das observações clássicas obtidas nos estudos fisiológico-bioquímicos da floração podem agora ser avaliadas sob a perspectiva molecular. Talvez, os resultados futuros levem a um conceito geral de um sinal floral transmissível e comum entre as plantas, cuja síntese seria dependente do contexto fisiológico e de diferentes sistemas reguladores, estabelecidos durante o processo evolutivo. Essa diversidade de controles observada na iniciação floral das angiospermas poderia resultar do acionamento de pontos de controle distintos em processos comuns do desenvolvimento.

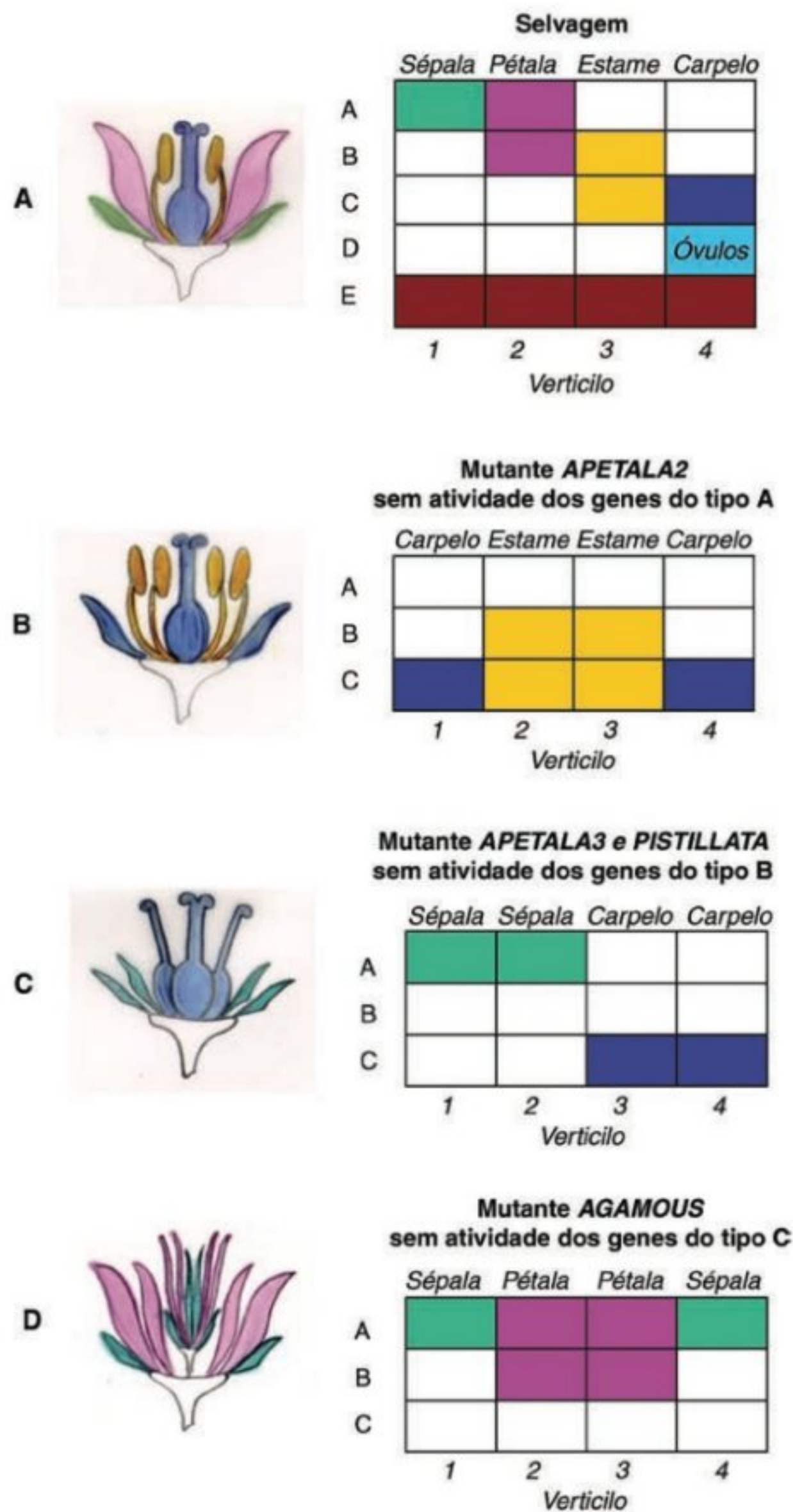
FLORAÇÃO IN VITRO

O desenvolvimento de estratégias visando à precocidade da floração é considerado bastante interessante, frente à perspectiva de redução do tempo investido nos processos de melhoria e dos custos de produções comerciais.

Os eventos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos, assim como os aspectos específicos da floração — indução e formação da gema adventícia, iniciação do botão floral e seu completo desenvolvimento até a antese — ou o processo reprodutivo como um todo, podem ser abordados sob condições *in vitro*. Tanto plantas inteiras quanto pequenos segmentos de regiões meristemáticas caulinares podem ser utilizados nesses estudos, permitindo abordagens do nível celular ao organismo completo.

A floração *in vitro* de várias espécies, dentre as quais plantas de tomate, melão, orquídeas e *Arabidopsis*, foi obtida com sucesso em meios adicionados de açúcares, indicando um papel essencial desses compostos na transição floral. Porém, em alguns casos, a sacarose estaria associada apenas à promoção do desenvolvimento das gemas florais, não apresentando efeitos sobre a iniciação floral.

A adição de citocininas ao meio de cultura tem também promovido a floração *in vitro* de tabaco e de algumas orquídeas como *Dendrobium* e *Psychorchis* (Fig. 18.16). Entretanto, a

**FIGURA 18.15**

Modelo de atividade dos genes homeóticos ABCDE, proposto para explicar a formação dos órgãos florais. A identidade dos órgãos florais é determinada pela atividade de cinco tipos de genes. A estrutura da flor madura de *Arabidopsis* está esquematizada à esquerda, evidenciando a disposição concêntrica dos órgãos florais em quatro verticilos. A. Nas plantas selvagens, apenas os genes do tipo A estão ativos no primeiro verticilo, resultando na formação das sépalas, em verde. As pétalas, em rosa, são diferenciadas no segundo verticilo, pela expressão conjunta dos genes do tipo A e B, enquanto a combinação das atividades dos genes B e C no terceiro verticilo forma os estames, em amarelo. No quarto verticilo, a formação dos carpelos é resultante da expressão única dos genes do tipo C. As classes de genes D e E foram incorporadas recentemente ao sistema, sendo que a função D determina o desenvolvimento dos óvulos, em azul-claro, e os genes E são necessários para o desenvolvimento de todos os órgãos florais, estando, portanto, ativos em todos os verticilos. A atividade dos genes do tipo A nos verticilos 1 e 2 reprime a expressão dos genes C, e os genes C inibem a atividade de A nos verticilos 3 e 4. B. A deleção da atividade dos genes do tipo A resulta na expansão da expressão de C no meristema floral, alterando a identidade dos órgãos, com a formação de carpelos no verticilo 1 e de estames no verticilo 2. C. A perda da função dos genes do tipo B causa a formação de sépalas no segundo verticilo e carpelos no terceiro verticilo. D. A deleção da atividade dos genes do tipo C resulta na expansão da expressão de A no meristema floral, alterando novamente a identidade dos órgãos, com a formação de pétalas no verticilo 3 e sépalas no verticilo 4.

presença desses hormônios no meio pode afetar negativamente o desenvolvimento das hastas florais, assim como a qualidade das flores, causando o aborto das gemas florais ou a retomada do desenvolvimento vegetativo. Várias anomalias no desenvolvimento floral foram observadas em plantas de melão e em explantes de tabaco e de soja cultivados em meios adicionados de citocininas. Essas alterações poderiam estar associadas à influência desse hormônio sobre a expressão de genes responsáveis pela identidade do meristema ou dos órgãos florais (genes homeóticos).

Os resultados obtidos até o momento indicam uma grande semelhança entre a floração *in vitro* e aquela observada em condições naturais, viabilizando o emprego de culturas em laboratório como

modelos experimentais para esses estudos. Apesar de a floração *in vitro* ter sido observada em várias espécies e sob condições nutricionais, hormonais e ambientais bastante controladas, o processo de floração continua ainda pouco compreendido.

PERSPECTIVAS NO ESTUDO DA FLORAÇÃO

O momento preciso em que o meristema vegetativo altera sua via de desenvolvimento para um programa floral é regulado por vários fatores ambientais e endógenos, selecionados ao longo do processo evolutivo nos diferentes grupos de plantas, de

**FIGURA 18.16**

Floração *in vitro* de plantas orquídeas. A. Ápices caulinares com cerca de 1,5 cm de comprimento isolados de plantas ainda jovens de *Dendrobium* Second Love cultivadas em meio de cultura adicionado de Thidiazuron (TDZ), uma citocinina sintética. (Doutorado de Wagner de Melo Ferreira, Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP, 2004.) B. Planta adulta de *Psychmorchis pusilla*. (Doutorado de Ana Paula Artimonte Vaz, Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP, 2002.)

formas potencialmente independentes. Além disso, a formação final das flores é resultado de uma série de processos de desenvolvimento seqüenciais, paralelos e também inter-relacionados. Os mecanismos moleculares que integram essas informações e conduzem ao programa reprodutivo como um todo estão sendo aos poucos desvendados.

Os avanços nos últimos 20 anos com a aplicação das técnicas de biologia molecular têm permitido uma melhor compreensão da floração, por meio da comparação das respostas florais de variedades naturais e mutantes, principalmente de *Arabidopsis thaliana*. Mutações que afetam a transição da fase juvenil para a fase adulta, assim como aquelas que alteram a formação dos órgãos florais, representam oportunidades para o isolamento e identificação de genes específicos reguladores da juvenilidade, de genes envolvidos na produção, transporte e sensibilidade ao sinal floral, e de genes mantenedores da via floral nos meristemas.

As informações geradas pelos estudos fisiológico-bioquímicos e moleculares da floração têm resultado em avanços significativos na compreensão desse complexo processo.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Bernier G, Havelange A, Houssa C, Petitjean A, Lejeune P. Physiological signs that induce flowering. *The Plant Cell*, 1993; 5:1147-1155.
- Levy YY, Dean C. The transition to flowering. *The Plant Cell*, 1998, 10:1973-1989.
- McDaniel CN, Singer SR, Smith SME. Developmental states associated with the floral transition. *Developmental Biology*, 1992; 153:59-69.
- Scorza R. In vitro flowering. *Horticulturae Review*, 1982; 4:106-127.
- Thomas B, Vince-Prue D. The physiology of photoperiodic floral induction. In: Thomas B, Vince-Prue D (eds). *Photoperiodism in Plants*. San Diego, Academic Press, pp 143-179.

Frutificação e Amadurecimento

Gilberto B. Kerbauy

INTRODUÇÃO

Origem dos frutos

Ao longo da evolução das plantas vasculares, o aparecimento dos frutos deu-se bastante tempo após o advento do “hábito seminífero”. Neste, o embrião envolto por estruturas protetoras é retido e se desenvolve sobre a planta mãe (esporofito), da qual se separa apenas quando totalmente formado. As primeiras sementes constituíam-se de estruturas nuas, formadas sobre folhas modificadas (megasporofilos), e como tais, expostas diretamente aos elementos da natureza. Sementes como essas podem ser encontradas ainda hoje nas gimnospermas viventes (do grego *gymnos*, nu; *sperma*, semente): o nosso popular pinhão-do-paraná (*Araucaria angustifolia*) é um bom exemplo desse tipo de estrutura.

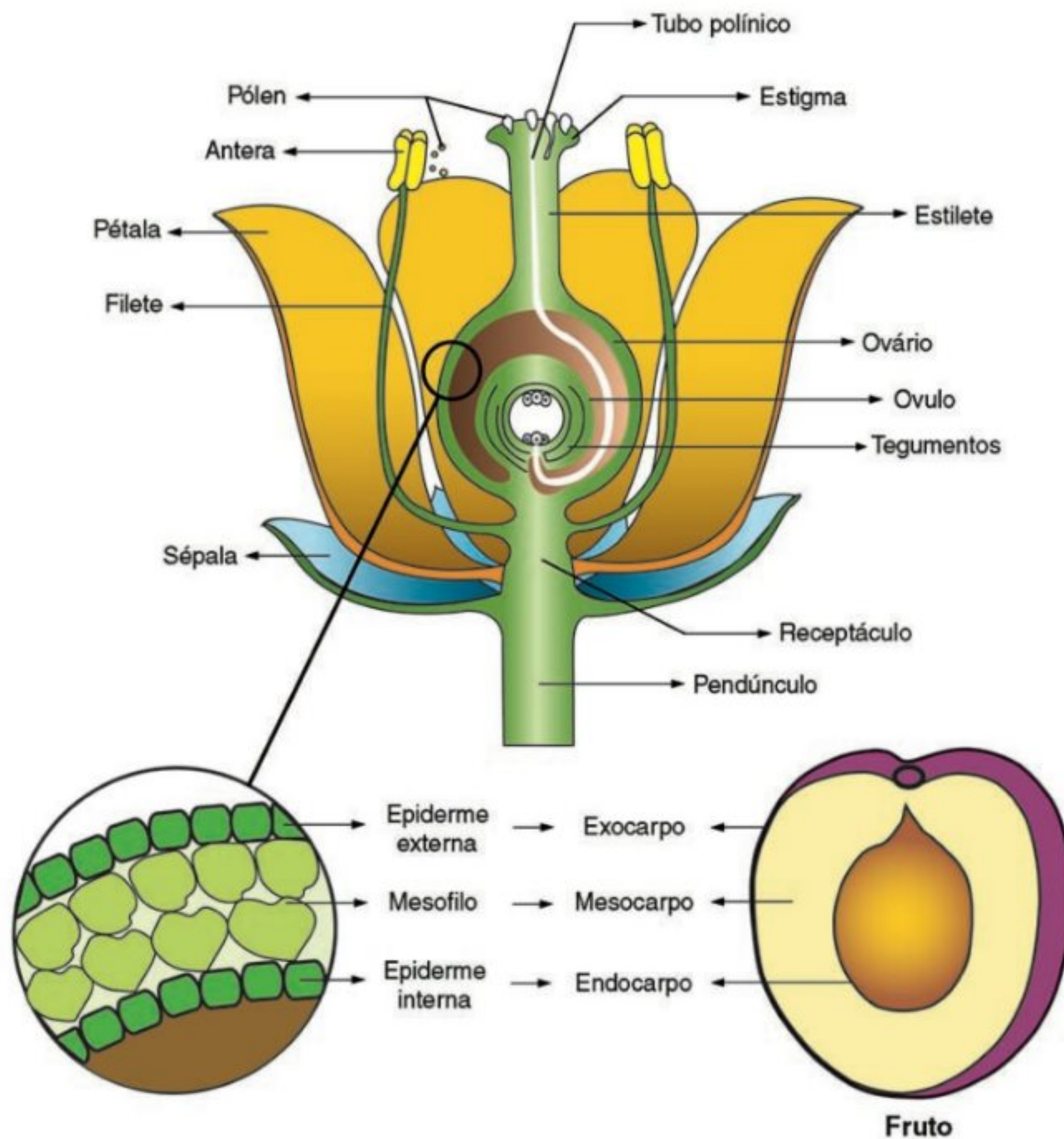
As primeiras plantas produtoras de flores e frutos surgiram no Cretáceo, período correspondente a 135 a 65 milhões de anos atrás, coincidindo com a extinção dos dinossauros da face da Terra. O nome dessas plantas — angiosperma — advém justamente do fato de suas sementes serem envoltas por uma estrutura protetora (do grego *angion*, urna). Com o surgimento dos frutos, as sementes antes expostas tornaram-se estruturas *protegidas*, e com maiores chances de sucesso. Paralelamente à proteção dos óvulos, diferenciaram-se também a parte masculina e os elementos de atração, constituindo a flor (Fig. 19.1).

Alguns eventos correlatos à diversificação das angiospermas no Cretáceo e Terciário foram acompanhados por uma variação explosiva num bom número de características, como a rápida co-evolução nos sistemas de polinização por insetos. Todavia, de modo oposto, outras características reprodutivas, como a diversidade de frutos e sementes, permaneceram praticamente inalteradas por um longo espaço de tempo evolutivo.

Estudos de fósseis indicam que os primeiros frutos eram do tipo *apocárpico*, o que significa dizer que os carpelos da flor eram livres, cada um constituindo um ovário completo. Os frutos com carpelos fundidos entre si — *sincárpicos* — apareceram mais tardiamente na evolução, em meados do Cretáceo, há uns 97 milhões de anos. Os registros fósseis indicam ainda que os frutos encontrados até meados desse período eram todos do tipo seco e destituídos ainda de modificações adaptativas para a *dispersão*. Os frutos suculentos (drupas e bagas) surgiram pela primeira vez no final do Cretáceo ou início do período Terciário, há cerca de 70 milhões de anos. Supõe-se que tanto o incremento rápido na variedade de frutos quanto a diversidade de tipos e tamanhos das sementes detectadas nos períodos Paleoceno e Eoceno (65 a 35 milhões de anos atrás) estariam relacionados com a diversificação dos mamíferos e aves, os principais dispersores das angiospermas atuais. Em geral, as sementes dos frutos suculentos são dispersas após a ingestão por animais frugívoros (zoocoria), enquanto os frutos secos são dispersos predominantemente por elementos naturais, como vento (anemocoria) e água (hidrocoria).

No decurso da evolução, a função protetora inicial dos frutos foi ampliada com a agregação de uma outra não menos importante: a *dispersão* das sementes. Tomando-se como parâmetro de análise a fantástica variabilidade de frutos hoje existentes, torna-se fácil aquilatar a imensa gama e magnitude de alterações genéticas, bioquímicas, fisiológicas e estruturais ocorridas no processo evolutivo desses órgãos, compatibilizando-os, magnificamente, para a dupla função que atualmente desempenham.

De certa forma, ao estudarmos a frutificação e o amadurecimento, nada mais fazemos do que desvendar os eventos bem-sucedidos selecionados ao longo do processo evolutivo e as complexas e íntimas relações que os frutos acabaram estabelecendo com as sementes alojadas no seu interior.

**FIGURA 19.1**

Flor diagramatizada mostrando os quatro verticilos constituintes e as correspondentes partes do carpelo e do fruto, esse do tipo drupa, com endocarpo pétreo (pêssego, azeitona).

Definições variadas têm sido usadas para os frutos. No contexto fisiológico, esses órgãos têm sido entendidos, na sua acepção mais simples, como um ovário fecundado, desenvolvido e amadurecido.

Surgimento do ovário

Os ovários são estruturas florais constituídas por folhas modificadas, os *carpelos*, o que significa dizer que os frutos, sejam eles de que tipo forem, na verdade nada mais são do que folhas profundamente modificadas. Uma questão que logo se coloca de forma inescapável é a de saber como teriam surgido os primeiros carpelos. Para melhor abordá-la, é condição *sine qua non* retrocedermos 200 anos na história moderna, mais exatamente em 1790, quando foi proposta a teoria da natureza foliar da flor, pelo eminente poeta alemão Johann Wolfgang von Goethe, também um naturalista refinado, em sua famosa obra intitulada *Uma Tentativa de Interpretação da Metamorfose das Plantas*. Análises

histológicas comparativas entre folhas e carpelos viriam mais tarde oferecer os elementos de convicção à sua teoria.

Todavia, quase dois séculos se passaram até que fossem oferecidas as primeiras evidências do envolvimento genético na evolução dos carpelos. A descoberta de genes homeóticos (genes mestres responsáveis pela formação de órgãos) envolvidos na identificação dos carpelos e de outros elementos durante os estágios iniciais da formação da flor ocorreu em 1991, com a descrição elegante do modelo ABC por Coen e Meyerowitz (ver Cap. 18, *Floração*). Mais recentemente, o modelo foi complementado com os genes D e E, responsáveis, respectivamente, pela formação de óvulos e a localização de cada verticilo no receptáculo floral. Segundo o modelo ABCDE, a identificação dos carpelos seria dada pelo gene C (*AGAMOUS-AG-*), em consonância com a atividade do gene E (*SEPALLATA-SEP-*). É interessante assinalar que táxons de angiospermas que se separaram há milhões de anos no processo evolutivo mantêm ainda entre si profunda homologia e conservação desses genes. Corroborando ainda a

teoria de Goethe, conta o fato de que mutações dos genes ABC resultam em peças florais com fenótipos inconfundivelmente foliares. A observação de que mutações do gene C levavam à formação de estruturas semelhantes a folhas veio reforçar a hipótese segundo a qual durante a evolução do carpelo deve ter ocorrido o recrutamento de mais genes, garantindo o estabelecimento de atributos específicos.

Estudos indicam que os ovários primitivos teriam se formado a partir de folhas isoladas e dobradas, cujas bordas fundiram-se durante a evolução, resultando numa estrutura tubular e fechada. A despeito de a origem das angiospermas ser matéria de especulação entre paleobotânicos, há a sugestão de que a evolução do carpelo teria se iniciado com o envolvimento dos óvulos por suas folhas produtoras (megasporófilos), ainda que as bordas permanecessem livres. De fato, tais estruturas foram encontradas em fósseis de pteridospermas extintas (pteridófitas com sementes), plantas cujas folhas jovens eram enroladas como as das atuais pteridófitas e Cycadales. Na Fig. 19.2 é mostrado um conjunto de óvulos formados e envoltos pelo megasporófilo de *Glossopteris* sp., uma pteridosperma arbórea, cujo conjunto sugere como o carpelo pode ter evoluído nas plantas precursoras das angiospermas.

Segundo se postula, a união das margens livres dos carpelos primitivos teria levado a alterações notórias dos feixes vasculares. Após a fusão carpelar, os feixes próximos às margens teriam também se fundido, originando uma estrutura unitária (Fig. 19.3). Como consequência, os óvulos, até então expostos, tornaram-se estruturas internas ao ovário, prescindindo inexoravelmente do estabelecimento de interações inéditas em diferentes níveis para superar a necessidade que se impôs de um desenvolvimento simultâneo e harmonioso entre ambos. Abordaremos neste capítulo algumas dessas relações funcionais de desenvolvimento.

DESENVOLVIMENTO DO FRUTO

Embora se tenha optado neste capítulo pela equivalência de significado entre frutificação e desenvolvimento do fruto, do ponto de vista ontogenético melhor seria compreendê-lo como a retomada do desenvolvimento do ovário após a fertilização dos óvulos. De certa forma, vale lembrar que eventos de parada e retomada de

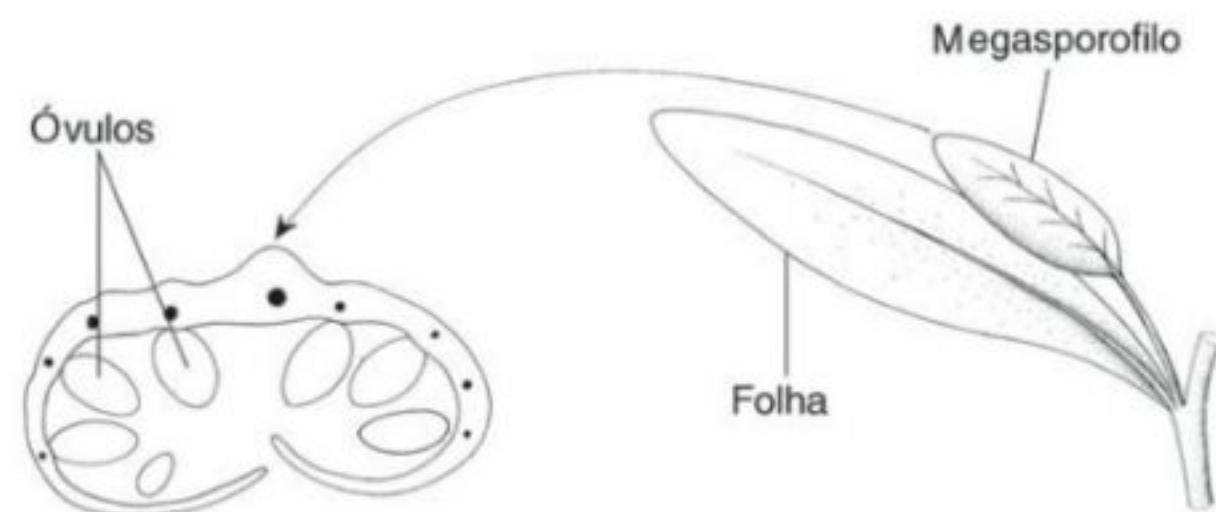


FIGURA 19.2

Esquema do megasporófilo dobrado e envolvendo óvulos de *Glossopteris*, uma pteridosperma arbórea fóssil. (Baseado em Gifford & Foster, 1989.)

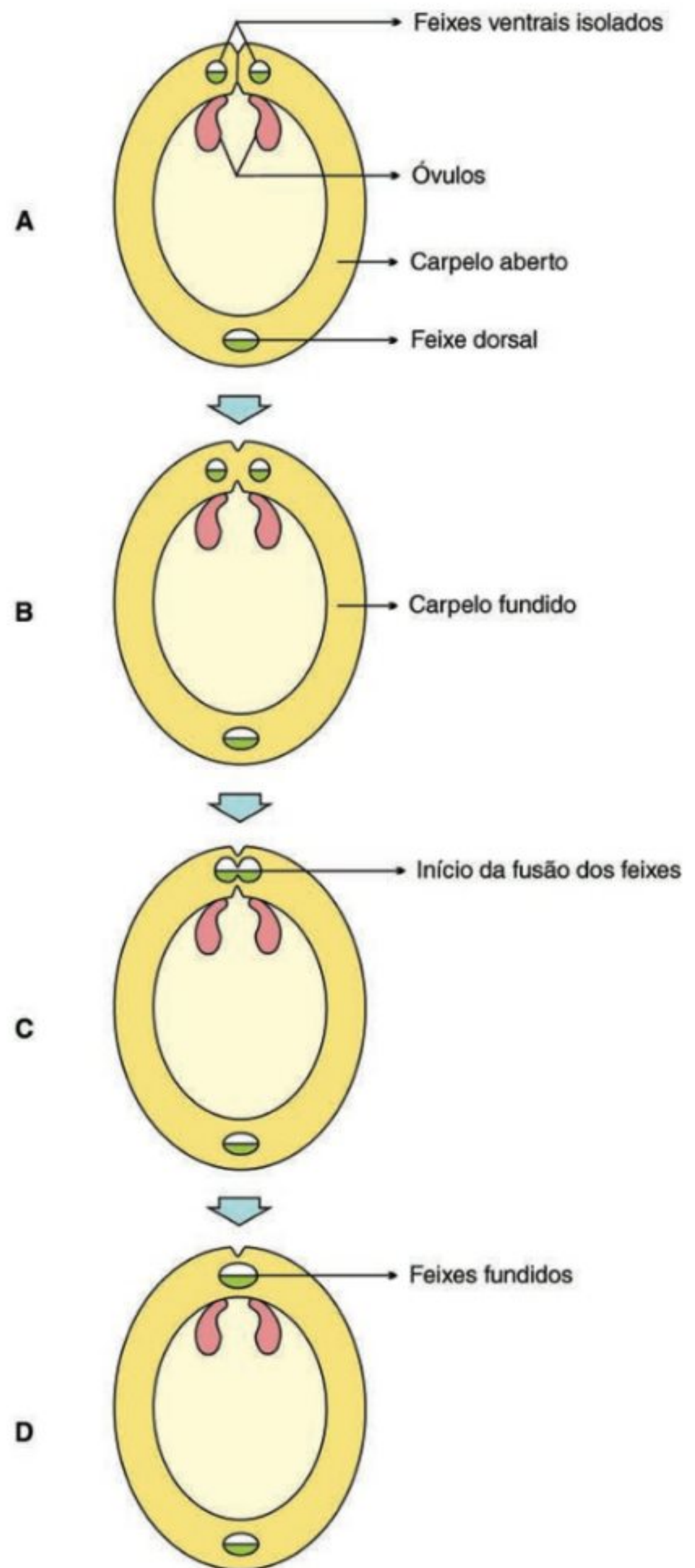


FIGURA 19.3

Diagrama relacionando os efeitos da união das margens do carpelo sobre a fusão dos feixes condutores durante a origem do ovário. (Baseado em Gifford & Foster, 1989.)

desenvolvimento são comuns na ontogenia das plantas vasculares em geral e fazem parte de uma estratégia bem-sucedida de desenvolvimento. A retomada do desenvolvimento embrionário na germinação das sementes é o exemplo mais estudado e conhecido (ver Cap. 20, Germinação). Com exceção dos raros frutos

sem sementes — *partenocárpicas* —, na ausência de polinização os ovários abortam e morrem, o que envolve perdas consideráveis de materiais e energia investidos no florescimento como um todo.

Conforme mostrado na simplicidade do modelo ABCDE, a formação do gineceu inicia-se pela atividade dos genes homeóticos C e E, em estágios bem precoces da formação da flor. Entretanto, uma vez determinada a via de desenvolvimento a ser seguida até a formação completa do ovário, os eventos nela envolvidos são ainda praticamente desconhecidos. De qualquer forma, é inescapável admitir que ela envolva sinais gênicos e hormonais mediadores dos processos de divisão e alongamento celular. A formação do ovário se iniciaria por uma breve atividade mitótica de intensidade variável de um minúsculo grupo de célula do receptáculo floral, seguida de expansão celular moderada.

Nos estágios iniciais da formação de flores de tomate, o controle do número de células carpelares está associado ao gene *fw2.2*. Curiosamente, foi verificado que a seqüência de bases desse gene apresenta similaridade com um gene envolvido na oncogênese humana. Genes homólogos a *fw2.2* foram encontrados também em outras espécies de plantas e estão intimamente relacionados ao controle do tamanho final do fruto (Frary *et al.*, 2000), o que será visto mais adiante na Fig. 19.8.

Em termos hormonais, a divisão celular nas plantas é mediada por um balanço endógeno entre uma auxina (AIA) e citocininas (ver Caps. 9, Auxinas, e 10, Citocininas), enquanto a expansão subsequente das pequenas células recém-formadas é mediada por concentrações adequadas de AIA e/ou giberelinas (ver Caps. 9, Auxinas, e 11, Giberelinas). Uma vez cessada a atividade de expansão, o ovário encontra-se competente à polinização e à retomada do curso de seu desenvolvimento. É o que será visto adiante.

Fases do desenvolvimento do fruto

Sob uma perspectiva mais abrangente, a frutificação envolve o desenvolvimento não apenas do fruto *per se*, mas, simultaneamente, de um outro órgão também importante e complexo, a *semente*. A rede de interações íntimas e profundas que esses órgãos estabeleceram entre si durante a evolução representa desafios extraordinários para a devida compreensão do desenvolvimento de ambos, seja do ponto de vista estrutural, fisiológico, bioquímico e molecular.

De modo geral, o fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum*, syn. *Solanum lycopersicum*) tem sido o mais estudado, constituindo-se atualmente num modelo referencial nas pesquisas de desenvolvimento e maturação de frutos em geral. Baseado nele, Gillaspay *et al.* (1993) dividiram o desenvolvimento do fruto em três fases distintas e consecutivas.

Fase I: envolve a *polinização*, *fertilização* e o início do desenvolvimento do fruto (*fruit set*), ou, dito de outra forma, a retomada do desenvolvimento do ovário.

Fase II: é marcada pela retomada das *divisões celulares*, tanto no ovário quanto na semente e no embrião em início de formação.

Fase III: caracterizada pela *expansão das células* e a *maturação do embrião*.

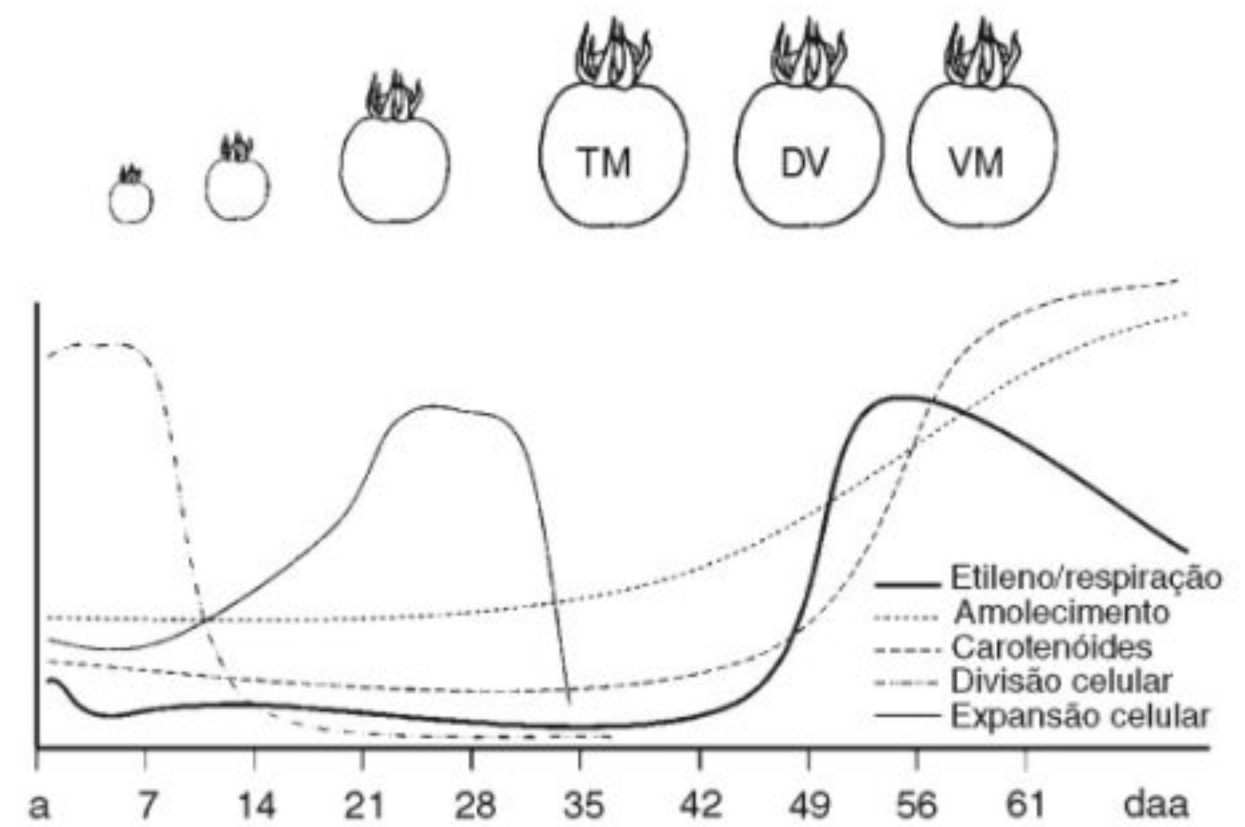


FIGURA 19.4

Alguns eventos relacionados às fases de frutificação e maturação de frutos de tomate durante dois meses após a antese. TM, tamanho máximo; DV, de vez; VM, vermelho-maduro; a, antese; daa, dias após a antese. (Reproduzida de Giovannoni, J.J. *The Plant Cell*, 2004. American Society of Plant Biologists, Fig. 1, Vol. 16, página S172.)

Essa divisão diz respeito essencialmente à frutificação, não fazendo parte dela duas outras fases não menos importantes e complementares: uma, anterior à fase I, a chamada identificação gênica do carpelo durante o desenvolvimento da flor, e outra derradeira, representada pelo amadurecimento do fruto. Na Fig. 19.4 são mostrados alguns parâmetros representativos das fases de desenvolvimento (frutificação) e maturação em frutos de tomate e suas variações durante dois meses após a antese.

FASE I — POLINIZAÇÃO, FERTILIZAÇÃO E INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO

Polinização

Este é um evento chave no desenvolvimento do fruto. As primeiras evidências experimentais foram obtidas há quase um século, em 1909, por Fitting na Alemanha usando extratos de pólen (massas de grãos de pólen) de orquídea. Nessas flores, as respostas manifestadas pela aplicação dos extratos ou pela própria polínia no estigma das flores eram rápidas e marcantes, com o intumescimento do ovário e o murchamento de pétalas, sépalas e labelo. A partir dessas observações foi sugerida a presença no pólen de alguma substância estimulatória ao crescimento do ovário. A presença de auxina em polínias foi descoberta anos mais tarde, em 1933.

Na retomada do desenvolvimento do ovário, a decisão para que a mesma se dê (*fruit set*) ou não — *abortamento* — depende do sucesso da polinização e fertilização. A polinização no seu primeiro momento prescinde da compatibilidade genética entre o pólen e a planta polinizada. O tubo polínico formado na germinação cresce no interior do canal pistilar em direção ao óvulo. Nesse percurso, os materiais necessários ao crescimento contínuo são fornecidos em boas proporções pelo próprio tecido do

**FIGURA 19.5**

Síndrome do desenvolvimento pós-polinização em uma flor de *Cattleya* híbrida. A. Flor não polinizada; B. 48 horas após a polinização; C. duas semanas após a polinização. (Foto: Lia Chaer.)

pistilo. Com a liberação dos núcleos gaméticos no saco embriônico, a oosfera é fecundada, e um embrião logo começa a se formar.

A importância da fertilização na fase inicial do desenvolvimento do fruto tem a ver com a continuidade dos eventos fisiológicos iniciados pela polinização. Em comum, ambos atuam como fatores positivos no controle inicial da frutificação, através, principalmente, da liberação de sinais hormonais específicos.

É freqüente, embora equivocado, atrelar-se a polinização apenas ao desenvolvimento do ovário *per se*. Além do intumescimento deste, outros eventos marcantes são facilmente visíveis, como mudanças de pigmentação, início da senescência com morte das peças do perianto e estames. Fala-se neste caso em *síndrome do desenvolvimento pós-polinização* (Fig. 19.5).

É bem conhecida a ação do etileno na senescência de pétalas e sépalas (ver Cap. 13, Etileno), e conseqüentemente seus efeitos deletérios na pós-colheita de certas flores cortadas, como cravos e orquídeas, por exemplo. Estas últimas chegam a ser sensíveis a concentrações tão baixas como uma parte por bilhão de etileno (1 ppb).

Flores polinizadas de mirtilo (*Vaccinium angustifolium*) e morango (*Fragaria* sp. cv. Cavalier) podem liberar quatro a cinco vezes mais etileno do que as flores não polinizadas. As auxinas são eficientes promotoras da síntese de etileno nas plantas; daí relacionar-se sua presença no pólen com a produção de etileno nas flores polinizadas. Polinizações e tratamentos com auxina incrementaram a expressão de genes que codificam para duas enzimas centrais na síntese de etileno em *Phalaenopsis*: a sintase do ACC (ACS) e a oxidase do ACC (ACO). Plantas mutantes para genes responsáveis pela síntese de proteínas receptores de etileno (ETR) perdem a competência natural de responder a esse hormônio. As evidências genéticas do controle da senescência e morte das células no perianto sugerem, amplamente, o envolvimento do processo de *morte celular programada* (ver Cap. 13, Etileno).

A morte celular programada parece refletir uma estratégia vantajosa ao desenvolvimento inicial do fruto. Na flor polinizada, eventos fisiológicos opostos sobrepõem-se, como o início do desenvolvimento do fruto e a morte do perianto. No primeiro

participam a auxina, giberelinas e citocininas, enquanto o etileno atua como o principal promotor da senescência, cada um dos quais por meio de programas gênicos específicos. O desenvolvimento intenso e simultâneo do ovário e dos óvulos eleva as demandas de metabólitos necessários às divisões celulares. O ovário atua como um forte *dreno de utilização*. Nessa fase inicial de desenvolvimento, além dos fotoassimilados produzidos pelas folhas, também os materiais acumulados no perianto senescente são carregados ativamente para o fruto. A perda de massa seca das partes senescentes e a translocação de materiais marcados radioativamente aplicados nessas e translocados para o fruto são provas consistentes do reaproveitamento de materiais das partes senescentes. Se considerado o número elevado de flores produzido por uma planta, torna-se fácil aquilatar a economia gerada pela morte celular programada nos estágios iniciais da formação do fruto.

A germinação dos grãos de pólen, o crescimento dos tubos polínicos e a formação do zigoto geram estímulos positivos no crescimento inicial do fruto. Auxinas e giberelinas são os dois principais hormônios por meio dos quais o pólen influencia esse processo (ver Caps. 9, Auxinas, e 11, Giberelinas). Experimentos com tomate apontam as giberelinas como estimulatórias ao início do desenvolvimento dos frutos, tanto que sua aplicação nas flores pode levar ao início do desenvolvimento desses órgãos, mesmo na ausência de fertilização. Tratamento de flores de tomate com giberelinas levou a um aumento substancial nos níveis endógenos de auxina no ovário (Sastry e Muir, 1963). Esses autores verificaram que o crescimento dos ovários tratados com AG correspondia àquele induzido pela polinização e fertilização, sendo os níveis endógenos de auxina significativamente equivalentes em ambas as situações. De forma oposta, foi verificado em pericarpo de ervilha que a síntese de AG podia ser regulada tanto pela aplicação de AIA quanto pelas sementes em desenvolvimento, em ambos os casos atuando sobre a expressão de um gene que transforma a AG20 na forma ativa AG1 (Ozga *et al.*, 2003). Essa interação biossintética entre ambos os fitormônios gera dificuldades adicionais na correta interpretação do papel de cada um deles no desenvolvimento do fruto. Além do mais, em muitas espécies de rosáceas, o efeito promotor das auxinas para a iniciação dos

frutos não se tem mostrado tão explícito como nas solanáceas e cucurbitáceas, por exemplo.

Partenocarpia

Por partenocarpia entende-se o desenvolvimento do ovário na ausência de polinização e fertilização, com a conseqüente formação de frutos sem sementes. Essa intrigante desconexão entre os processos de desenvolvimento do fruto e a polinização/fertilização faz dos frutos partenocárpicos um excelente modelo experimental para estudos de frutificação sob diferentes aspectos.

A maior conveniência de consumo de frutos partenocárpicos em relação aos respectivos frutos com sementes é facilmente compreensível, seja do ponto de vista do consumo *in natura* ou para fins industriais; banana, uva, laranja e melancia são bons exemplos disso. Esforços intensos de melhoramento genético têm sido voltados à ampliação desse atributo em frutos carnosos comestíveis. Sob condições de campo, eles dispensam a necessidade de agentes polinizadores, quaisquer que sejam, assim como de condições climáticas apropriadas na época da floração, dentre outras vantagens.

A partenocarpia pode ser geneticamente controlada ou artificialmente induzida por aplicações de hormônios. Ela pode ocorrer:

- 1 – na falta absoluta de polinização;
- 2 – após polinização desacompanhada de fertilização, devido à morte do pólen ou a grãos de pólen de espécies incompatíveis;
- 3 – após fertilização seguida de abortamento do embrião.

Em variedades partenocárpicas de maçã (*Malus domestica*), esse caráter é conferido por um único gene mutante recessivo, homólogo ao gene *PISTILLATA* (*PI*) de *A. thaliana* pertencente ao grupo B do modelo ABCDE (ver Cap. 18, Floração). As flores das plantas mutantes (*mdpi*) são destituídas de pétalas e estames, mostrando assim que, além do seu envolvimento na identificação desses dois verticilos durante os estágios iniciais da ontogênese floral, ele toma parte ainda no desenvolvimento do ovário na ausência de polinização e fertilização (Yao *et al.*, 2001). Em termos genéticos, esses resultados implicam o reconhecimento de que em plantas não-mutantes (selvagens) dessa variedade de maçã, o gene *MdPI* (dominante), além de participar da especificação de pétalas e estames, atua como um regulador negativo da iniciação do fruto, inibindo o desenvolvimento do carpelo na ausência da polinização e fertilização. Nas plantas mutantes, portanto, parece ocorrer um desacoplamento entre o desenvolvimento do ovário e os eventos de polinização e fecundação, permitindo de alguma maneira a autonomia de seu desencadeamento e manutenção até o estágio final do crescimento do fruto.

A presença de auxina e giberelinas em frutos partenocárpicos corrobora a sugestão de que eles seriam auto-suficientes na biossíntese de ambos. É bem conhecida, há bastante tempo, a formação de frutos partenocárpicos após a aplicação de auxinas ou giberelinas nos ovários. Além disso, plantas de tabaco, berinjela e tomate geneticamente modificadas pela introdução do

gene *iaaM*, responsável pela síntese de AIA, passaram a produzir frutos partenocárpicos. Complementarmente, Goetz *et al.* (2006) observaram em plantas partenocárpicas de *Arabidopsis thaliana* que esse comportamento do ovário resultava da mutação de um gene envolvido na síntese de um dos fatores de resposta à auxina (*auxin response factor* ARF8 — ver Cap. 9, Auxinas). Nesse caso, como no da maçã, observa-se que nas plantas normais a forma dominante dos genes parece inibir o desenvolvimento do carpelo não fecundado. Se procedente essa interpretação, seria razoável admitir que a auxina e/ou giberelinas, tão importantes para a iniciação do desenvolvimento do fruto polinizado/fertilizado, teriam como um de seus efeitos remover a inibição imposta genicamente. O fato de a partenocarpia ser induzível por fatores diversos e independentes, como auxina, giberelinas e citocininas, sugere a existência de uma rede intrincada de eventos, protagonizada por um sistema multigênico, onde mutações específicas podem levar à formação de frutos partenocárpicos.

A retomada do desenvolvimento do ovário após a polinização depende da transdução de sinais relacionados à síntese de auxina, o tempo suficiente para coordenar-integrar as atividades de divisão celular iniciais do carpelo, do saco embrionário e a fertilização. Por sua vez, conforme mencionado anteriormente, a auxina pode também estimular a síntese de giberelinas específicas em frutos de ervilha jovens (Ozga *et al.*, 2003).

Essas observações indicam que a ação cooperativa entre auxina e giberelinas endógenas atuaria no sentido de sincronizar e integrar as atividades iniciais básicas do desenvolvimento do carpelo, saco embrionário e embrião. Nos frutos partenocárpicos, a cadeia de transdução de sinais desencadeada por esses hormônios seria alterada de maneira tal que outros sinais passariam a atuar (sinais gênicos) na elevação dos níveis hormonais, de forma independente da polinização/fertilização.

FASE II — DIVISÃO CELULAR, FORMAÇÃO DA SEMENTE E DO EMBRIÃO

Em geral, durante ainda o desenvolvimento da flor, o crescimento do ovário é influenciado mais intensamente pela proliferação do que pela expansão celular (vacuolização). Exceto as plantas partenocárpicas, na maioria das espécies estudadas as divisões celulares são interrompidas durante ou logo após a abertura dos botões florais (antese). Em ovário fecundado de tomate, as divisões celulares podem prolongar-se durante cerca de oito dias, um período relativamente breve se se considerar que o fruto adquire o tamanho máximo cerca de sete semanas após. Nas plantas orquídeas, o período de proliferação após a polinização é igualmente curto, porém, o fruto só alcança o tamanho definitivo após 60 a 80 dias, período esse no qual são formados os milhares de minúsculos óvulos, quando então ocorre a fertilização. Durante esse longo interregno, os gametas masculinos permanecem no interior dos tubos polínicos, “aguardando” o completo desenvolvimento dos óvulos. Portanto, nessas plantas, as divisões ocorrem predominantemente no tecido placentário e dependem tão-somente da polinização.

Os mecanismos que regulam a separação temporal e espacial entre os eventos de divisão, expansão e diferenciação celular nas plantas, incluindo os moleculares, não são bem entendidos até o presente. Certamente, eles são mediados por uma cascata de fosforilações de proteínas enzimáticas, em resposta a sinais de crescimento específicos (ver Caps. 9, Auxinas, e 10, Citocininas).

Análises histológicas de frutos de tomate realizadas por Gillaspay e colaboradores (1993) mostraram que nos estágios bem iniciais da fase II (cerca de 0,2 cm de tamanho) a atividade mitótica era mais intensa na parte externa do mesocarpo (Fig. 19.6A e 19.6D), enquanto na semente em desenvolvimento a proliferação celular concentrava-se nas camadas mais periféricas do tegumento do que nos embriões. Uma elevada freqüência de células em divisão foi detectada ainda na columela e na placenta, das quais provavelmente originam-se os respectivos tecidos vasculares (Fig. 19.6A). Quatro a seis dias após a antese, quando os frutos alcançaram cerca de 0,5 cm de diâmetro (Fig. 19.6B e 19.6E), as divisões restringiam-se principalmente às camadas externas do mesocarpo, enquanto na placenta concentravam-se nas camadas externas das sementes e na formação dos tecidos vasculares. O final da fase II e o início da fase III de certa forma se sobrepõem. Embora em menor freqüência, as divisões ainda ocorrem de maneira bem restrita nas camadas ainda mais laterais do mesocarpo e da placenta, desta última originando-se as células do lóculo (Fig. 19.6C e 19.6F). Por outro lado, acentua-se por essa ocasião a atividade mitótica no embrião em desenvolvimento.

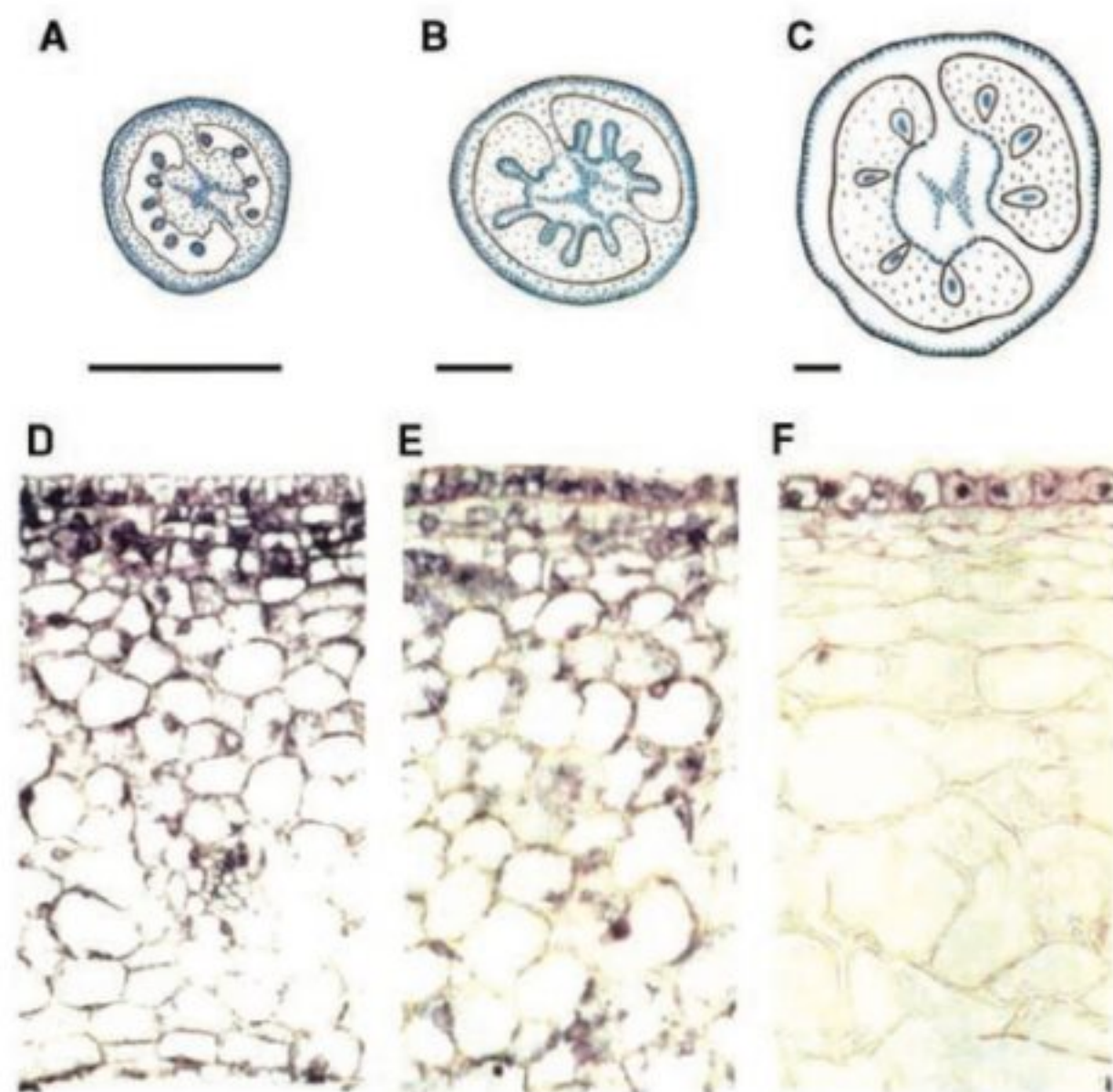


FIGURA 19.6

Esquema ilustrativo da atividade mitótica (pontos azuis) em frutos bem jovens de tomate (A e D) e em estágios mais avançados da fase II (B e E). As figuras C e F representam a passagem da fase II para a fase III. (Reproduzido de Gillaspay *et al.* *The Plant Cell*, 1993. American Society of Plant Biologists, Fig. 4, Vol. 5, página 1444.)

Estudos têm reiteradamente comprovado a importância dos embriões e das sementes no controle da taxa de divisão celular nos tecidos de seus entornos. O número de óvulos fertilizados determina a taxa de crescimento inicial do ovário. Tanto assim que, se por alguma razão os óvulos de uma determinada parte do ovário não se desenvolverem em sementes, esse lado do fruto apresentará deformações. Além disso, tem sido verificada também uma correlação positiva entre o número de sementes em desenvolvimento, a sustentação prolongada do crescimento e a formação de frutos de maior tamanho. A disponibilização adequada de agentes polinizadores que garantam a fecundação de um maior número de óvulos resulta na produção de frutos com maior valor de mercado.

Essas observações permitem concluir que os parâmetros genéticos envolvidos no controle do fenótipo final do fruto podem ser influenciados no plano fisiológico pelo número de sementes em desenvolvimento. Todavia, não se sabe ainda ao certo como ambos os parâmetros regulariam o número de divisões celulares na fase II. O fato de os frutos serem órgãos com crescimento fortemente determinado dá uma boa medida da importância dessa regulação no seu desenvolvimento. A despeito desses desconhecimentos básicos, sabe-se, no entanto, que o tamanho final do fruto depende de fatores como:

- 1 – número de células do ovário antes da fertilização;
- 2 – número de divisões celulares ocorridas após a fertilização dos óvulos;
- 3 – número de fertilizações bem-sucedidas;
- 4 – magnitude da expansão celular.

São ainda escassas as informações a respeito das inter-relações entre as células de embriões/sementes com aquelas do fruto em desenvolvimento. Como elas se comunicam entre si? Quais os mensageiros envolvidos? Concentrações rigidamente controladas de citocininas e auxina são cruciais no controle da divisão celular em plantas (ver Caps. 9, Auxinas, e 10, Citocininas). Na maioria dos frutos estudados, as citocininas são mais abundantes nas sementes em desenvolvimento do que nos tecidos do pericarpo e placentário. De certa forma, esses resultados são corroborados pela observação de que frutos partenocárpicos contêm menores teores de citocininas do que os frutos com sementes. Acredita-se que as citocininas liberadas pela semente jovem se difundam e regulem a atividade de divisão celular nos tecidos do fruto. Uma das questões é a de se saber, por exemplo, como as concentrações de citocininas liberadas seriam controladas: se pelas sementes jovens, pelas células receptoras do fruto ou por ambos?

FASE III — EXPANSÃO CELULAR, CRESCIMENTO DO FRUTO E MATURAÇÃO DO EMBRIÃO

A expansão celular representa uma das causas mais conspícuas para o crescimento das plantas em geral. Todavia, é nos frutos que ela adquire magnitudes excepcionais. Em tomate, 2/3 do desenvolvimento do fruto é dado pela expansão de suas células, sendo

**FIGURA 19.7**

Abóbora gigante colhida nos Estados Unidos em 2006. Trata-se de um dos maiores frutos já obtidos.

que as do mesocarpo e da placenta podem experimentar incrementos de até vinte vezes. Indubitavelmente, é nos frutos das cucurbitáceas que se têm registrado os valores mais formidáveis de crescimento. Em melancia (*Citrulus vulgaris*), por exemplo, as células podem aumentar cerca de 350.000 vezes de tamanho, tornando-se visíveis a olho nu nos frutos maduros. Recentemente, foi produzido nos Estados Unidos um fruto de abóbora com 681 quilos de peso (Fig. 19.7).

A expansão celular contribui de forma proeminente para as alterações estruturais, bioquímicas e fisiológicas que caracterizam os frutos carnosos. As alterações na parede celular associadas à acumulação de água, carboidratos, ácidos orgânicos etc. nos vacúolos são imprescindíveis à manutenção do potencial de turgor (ver Cap. 1, Relações Hídricas). Esses eventos contribuem ainda, decisivamente, para o estabelecimento do sabor, textura, aroma e outras características atrativas do fruto quando maduro.

A fase de expansão celular é regulada por fatores genéticos e fisiológicos. Nesse período, as cromátides (filamentos cromossômicos) das células parenquimáticas do pericarpo podem passar por ciclos múltiplos de duplicação (endorreduplicação), fazendo com que essas se tornem altamente poliploidizadas e aumentem dramaticamente de tamanho. Uma correlação positiva entre o tamanho celular e o nível de ploidia é comum em plantas e animais. Medidas dos teores de DNA em frutos de tomate mostraram que os núcleos podem alcançar valores tão elevados como 256 C (C = nível de DNA de células haplóides). Incrementos substanciais de tamanho celular devido à poliploidização têm sido também freqüentemente observados durante a formação do endosperma, cotilédones e suspensor do embrião. Além do aumento do tamanho das células e órgãos, essa elevação no teor de DNA teria a ver também com a atividade metabólica das células poliploidizadas.

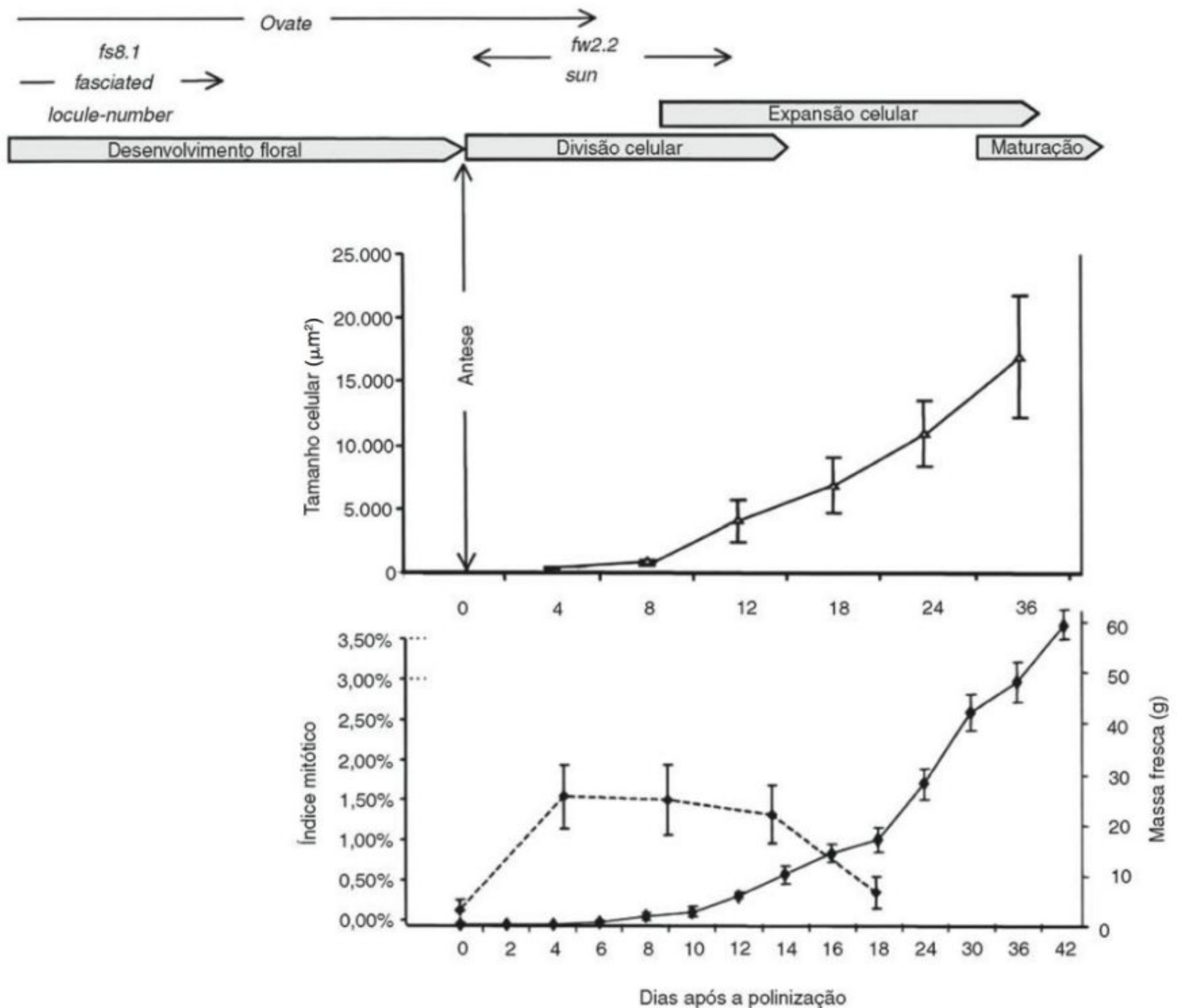
É insofismável a importância do tamanho dos frutos na produção agrícola. Espécies domesticadas modernas, mesmo que taxonomicamente distintas, compartilham entre si a produção de frutos muito maiores do que os das respectivas espécies selvagens. O melhoramento genético teve papel marcante nesse processo. A título de ilustração, tomando-se mais uma vez o tomate como parâmetro de referência, tem-se que enquanto os frutos das espécies selvagens são tipicamente bicarpelares, com cerca de 1,0 cm de diâmetro e alguns gramas de peso, os das variedades domesticadas podem ser multicarpelares, alcançar 15 cm de diâmetro e pesar até 1,0 quilo. A questão que se coloca é de se saber quais tipos de alterações genéticas possibilitaram que frutos selvagens pequenos pudessem originar frutos comparativamente enormes, hoje comumente encontrados no mercado.

De acordo com Tanksley (2004), o tamanho dos frutos de tomate estaria associado a pelo menos seis genes (herança quantitativa). Mutações recessivas desses genes trazem como consequência um ganho formidável de tamanho. Isso explicaria o tamanho reduzido dos frutos selvagens conferido por um controle negativo exercido pelos respectivos genes dominantes. Na Fig. 19.8 são indicados os principais genes relacionados aos eventos de desenvolvimento anteriores e posteriores à antese, com efeitos marcantes sobre o tamanho e a forma dos frutos. Assim, por exemplo, o gene *ovate* parece estar envolvido na determinação da polaridade das divisões celulares; *fasciated* no número de carpelos/lóculos; *locule-number* sobre o número de lóculos; *fw2.2* nas plantas selvagens inibe a divisão celular (regulação negativa), enquanto nas plantas mutantes pode levar a um incremento de até 30% no tamanho dos frutos. Na Fig. 19.9 (A a G) é mostrada a ampla variação de tamanho e formas ocorrentes nesses frutos.

Até onde se conhece, as auxinas são as principais responsáveis pela expansão celular nos frutos (afrouxamento das paredes), facilitando a entrada e retenção de água e solutos. Entretanto, frutos jovens não fertilizados de tomate quando isolados e cultivados *in vitro* na presença de auxina não apresentaram expansão celular e crescimento, sugerindo a participação de algum fator regulatório adicional produzido pela semente e/ou pelo embrião.

O primeiro pico na concentração da auxina em tomate ocorre cerca de dez dias após a antese e coincide com o início da expansão celular (Fig. 19.10). Essa decorre principalmente da acidificação da parede celular (crescimento ácido) — ver Caps. 8, Parede Celular, e 9, Auxinas. O segundo pico ocorre nos estágios finais do desenvolvimento do fruto, com as células já no tamanho máximo, e coincide com a fase final do desenvolvimento do embrião, quando ocorre um rápido alongamento de suas células. Nos frutos partenocárpicos, conforme esperado, esse pico não tem sido detectado.

O papel das giberelinas no desenvolvimento do fruto não é ainda muito bem entendido. No tomate parecem estar envolvidas no controle da divisão celular e manutenção da expansão celular. Durante a formação desses frutos, o primeiro pico de acumulação coincide com a ativação da divisão celular no início da fase II e com a expansão celular máxima na fase III, quando os níveis de auxina diminuem (Fig. 19.10). Essa dinâmica é consistente com

**FIGURA 19.8**

Relações entre as atividades de alguns genes envolvidos na determinação do tamanho e da forma de frutos de tomate e a frequência mitótica, expansão celular e o incremento de massa fresca durante 42 dias após a polinização. (Reproduzida de Thanksley SD. *The Plant Cell*, 2004. American Society of Plant Biologists, Fig. 2, Vol. 16, página S183.)

o modelo segundo o qual a auxina estimula a síntese de giberelina e vice-versa (ver Cap. 9, Auxinas).

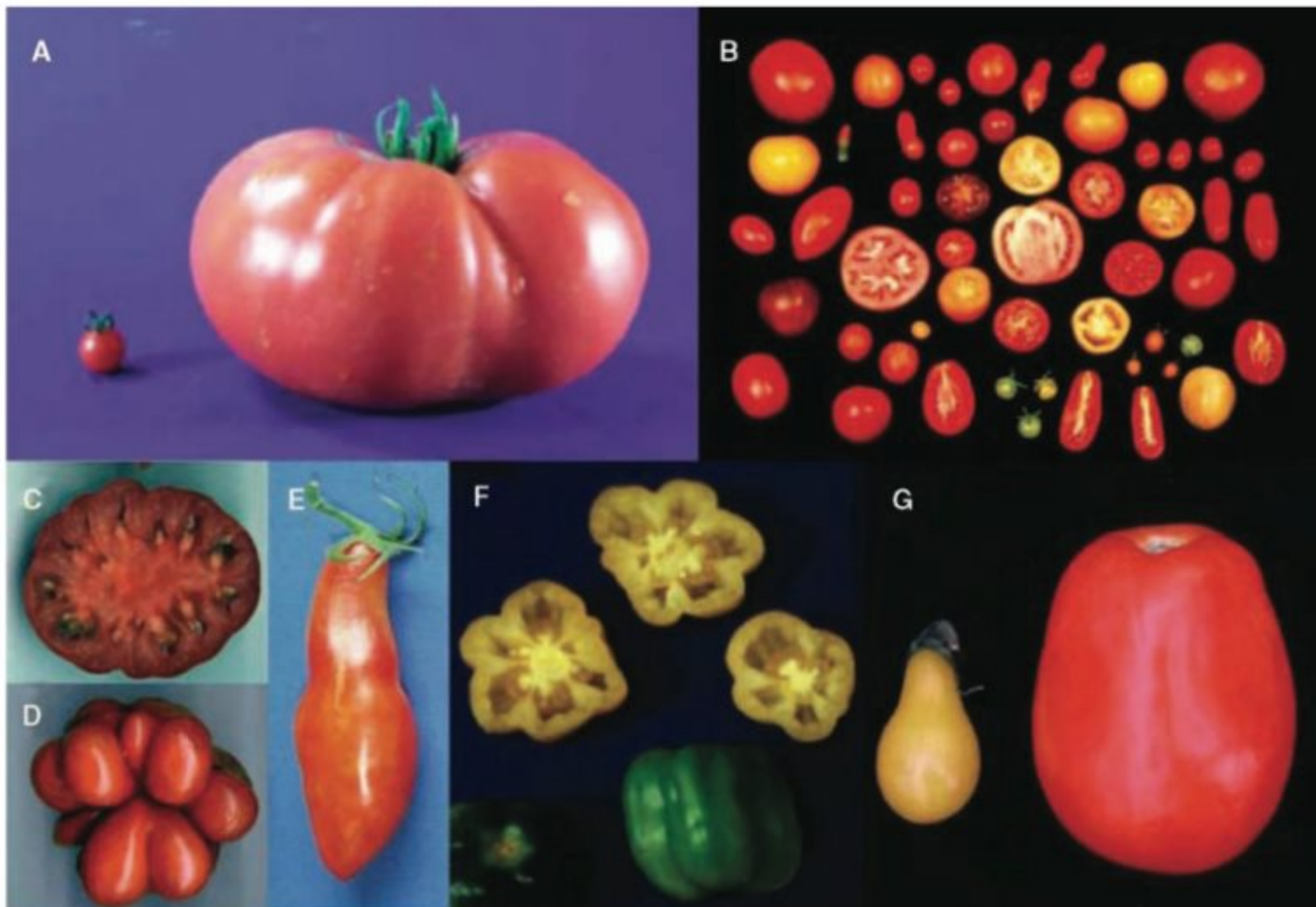
Em frutos partenocárpicos, o acúmulo de giberelinas ocorre na fase II, podendo alcançar valores bem mais elevados do que nos respectivos frutos com sementes, assim como também maiores valores de expansão celular do que na fase III.

A expansão celular promovida pelas giberelinas deve-se à síntese da enzima xiloglucano endotransglicosilase (XET), responsável pela ruptura das ligações da celulose com o xiloglucano (hemicelulose), causando o afrouxamento da parede celular (ver Caps. 8, Parede Celular, e 9, Auxinas).

A desidratação profunda por que passam as sementes e embriões nas fases mais avançadas do desenvolvimento dos frutos é uma questão ainda pouco compreendida. Como explicá-la em sementes literalmente “mergulhadas” no inte-

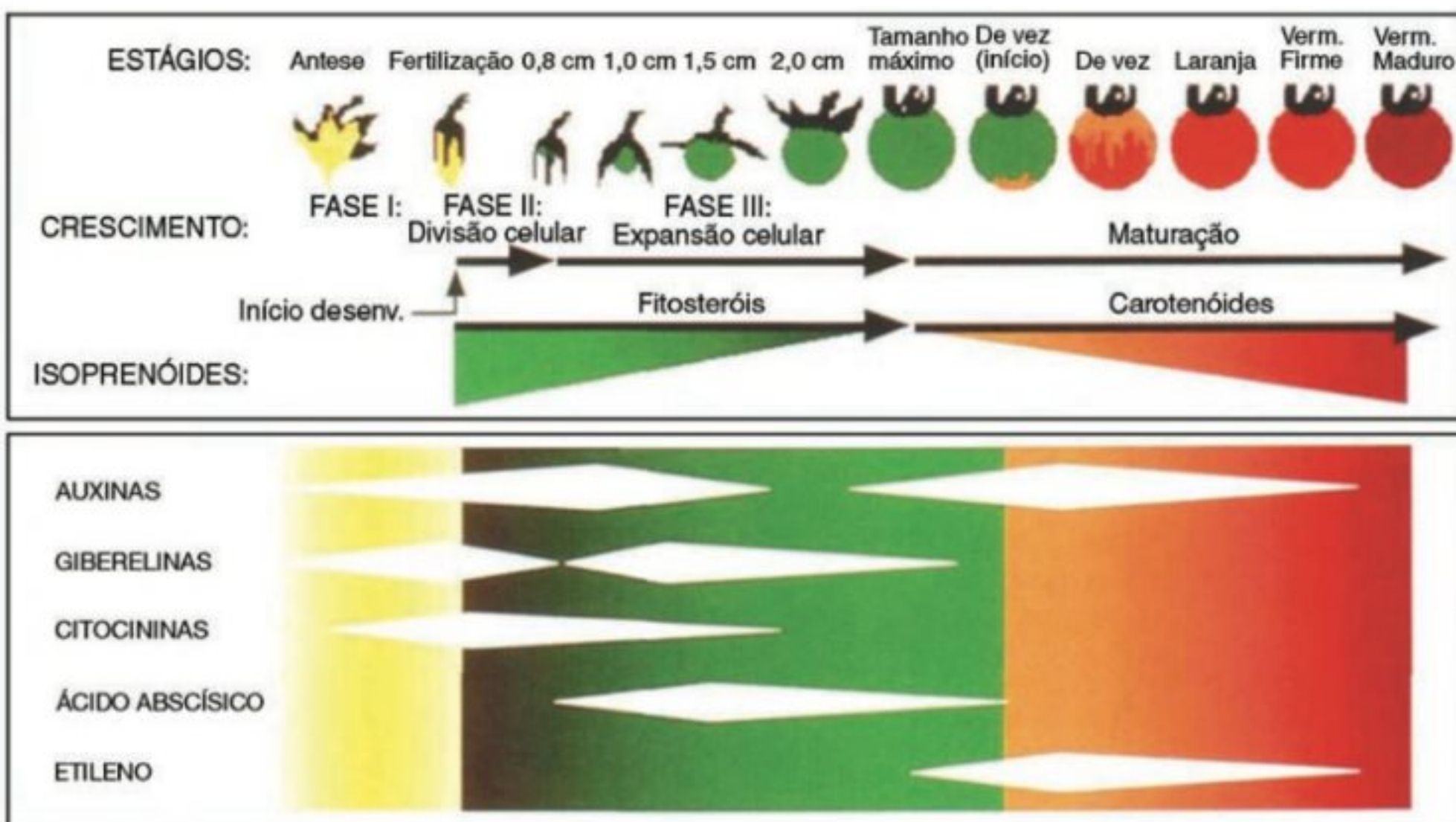
rior de tecidos “encharcados”, como é o caso, por exemplo, da melancia? Presumivelmente, o movimento de água de tecidos em processo de dessecação em direção a outros com elevadíssimo grau de hidratação deve envolver a participação de algum mecanismo ativo e gasto de energia. No momento, as aquaporinas, como microcanais que atravessam a membrana plasmática das células, figuram como candidatas à essa função (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

A desidratação dos tecidos vegetais atua como uma das principais causas no incremento da síntese de ácido abscísico nos vegetais em geral (ver Cap. 12, Ácido Abscísico). Conforme é mostrado ainda na Fig. 19.10, os valores mais elevados de ABA no desenvolvimento de frutos de tomate coincidem com a fase de dessecação das sementes. O ABA, nesses casos, pode atuar como inibidor de eventos importantes como a divisão celular, a síntese

**FIGURA 19.9**

Fotos ilustrativas da ampla variação de tamanho e forma em frutos de tomate causada por mutações.

- A. Fruto gigante comumente cultivado nos dias presentes (direita) e o fruto típico de uma espécie relacionada (*Lycopersicon pimpnellifolium*).
- B. Diferentes formas, tamanho e cor.
- C. Corte transversal de um fruto multilocular mutante para o gene *fasciated*.
- D. Fruto com carpelos não fundidos.
- E. Fenótipo alongado causado pelos genes mutantes *sun* e *ovate*.
- F. Fruto de forma quadrangular com aparência de pimentão.
- G. Fenótipos causados por mutação do gene *ovate*. A forma quadrangular do fruto da direita seria devido à presença do gene *fs8.1*. (Reproduzida de Tanksley SD. *The Plant Cell*, 2004. American Society of Plant Biologists, Fig. 1, Vol. 16, página S182.)

**FIGURA 19.10**

Variações nos níveis endógenos de auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico e etileno (losangos brancos) durante o desenvolvimento de frutos de tomate. As cores amarela, verde e vermelha indicam os estágios de pré-fertilização, crescimento e amadurecimento, respectivamente. (Reproduzida de Gillaspay G et al. *The Plant Cell*, 2004. American Society of Plant Biologists, Fig. 2, Vol. 5, página 1441.)

protéica, a taxa respiratória, o metabolismo de açúcares etc., prevenindo assim a germinação precoce das sementes ainda no interior dos frutos (viviparidade). Compreende-se a ocorrência de viviparidade em diferentes plantas mutantes para esse hormônio (ver Cap. 12, Ácido Abscísico).

Controle metabólico do crescimento do fruto

A presença de cloroplastos funcionais nos frutos ainda verdes não contribui satisfatoriamente para o atendimento das demandas de fotoassimilados, tornando-os dependentes da fixação de CO₂ nas folhas e do transporte de sacarose, aminoácidos etc. para as células. Há assim, por parte do fruto e da semente, a necessidade de um monitoramento contínuo da taxa de importação dessas substâncias. Conforme já mencionado, os frutos quando ainda jovens atuam como *drenos de utilização*. Nas fases mais avançadas transformam-se em *drenos de armazenamento*. Dada a importância na produção agrícola, a força e o tempo de atividade dos drenos têm sido investigados extensamente sob diferentes níveis de abordagens.

O número de células do ovário na pré-antese e a intensidade das divisões celulares após a polinização-fertilização são fatores críticos na determinação da força do dreno, sendo ambos determinados geneticamente. Ovários de tomate posicionados na extremidade do cacho têm menos células do que os da porção proximal, fazendo com que esses últimos apresentem maior força de drenagem e maior tamanho final também. Entretanto, se os ovários da posição distal forem polinizados antes dos de posição proximal, embora contendo menos células, desenvolvem uma força de drenagem superior àquela dos frutos proximais polinizados mais tardiamente. Isso significa que a intensidade de drenagem é apenas parcialmente determinada pelo número de células, e que ela pode ser modulada pelas atividades metabólicas relativas dos frutos durante o desenvolvimento. Conforme indicado então, a maior eficiência na importação de fotoassimilados é intensamente influenciada por fatores espaciais (posição) e temporais, resultando no estabelecimento de “competição” entre os frutos por fotoassimilados. De modo geral, tanto o estabelecimento quanto o funcionamento dos drenos dependem de sinais hormonais específicos e localizados (ver, por exemplo, o Cap. 10, Citocininas) e da atividade metabólica alavancada enzimaticamente.

MATURAÇÃO

Uma vez encerrada a fase de desenvolvimento propriamente dita (frutificação), quando o fruto e suas células adquirem o tamanho máximo, tem início o processo de maturação. Trata-se de um evento fisiológico complexo, tangido por mudanças fisiológicas, bioquímicas e estruturais dramáticas, perceptíveis pela mudança de características como a coloração, textura, sabor e aroma. Sugere-se, para maiores informações a respeito dos aspectos bioquímicos subjacentes a esse processo, que seja consultado um bom livro de bioquímica geral. No que diz respeito

ao metabolismo do etileno, recomenda-se que seja consultado o Cap. 13 deste livro.

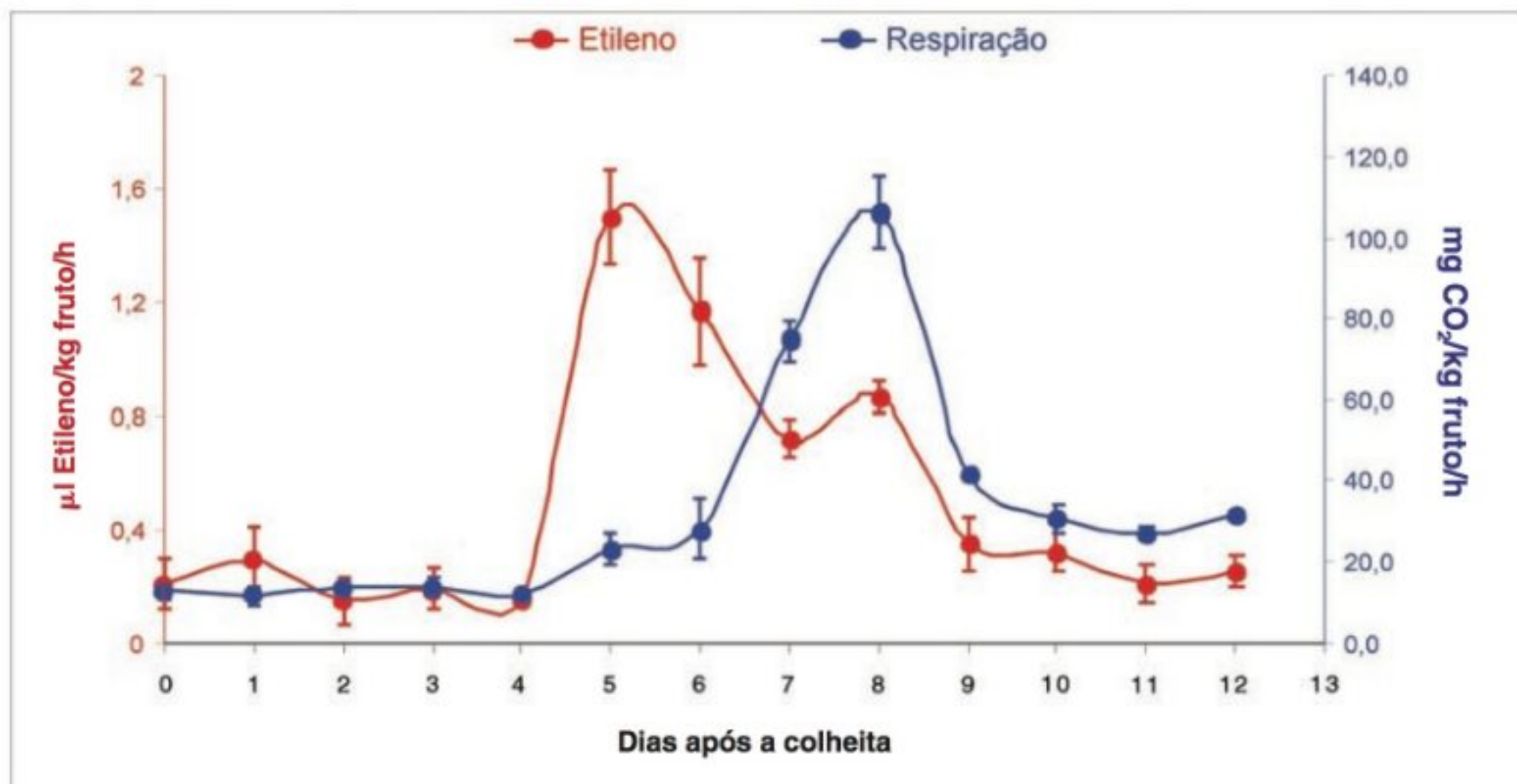
Embora, freqüentemente, a maturação dos frutos carnosos seja tomada como sinônimo de senescência, persistem entretanto controvérsias a esse respeito. Na realidade, dependendo do ângulo de análise, pode-se tratar de dois eventos distintos. Diferentemente do que ocorre na senescência de folhas e pétalas, as reservas acumuladas nos frutos não são retranslocadas para outras partes da planta, em razão de que esses últimos não sofrem os impactos deletérios da morte celular programada, decorrentes da hidrólise e remoção de reservas e componentes celulares (ver Cap. 13, Etileno). Além do mais, é bom lembrar que o argumento de que ambos os órgãos são induzidos pelo etileno não se aplica *in totum* aos frutos não-climatéricos, razão pela qual fica algo limitada também a denominação generalizada de “hormônio da maturação”.

Fisiologicamente, dependendo da forma de maturação, os frutos carnosos podem ser classificados em dois grandes grupos: *climatéricos* e *não-climatéricos* (do grego *klimakterikós*, que significa período de transformações profundas da vida). Nos primeiros, o amadurecimento é caracterizado por incrementos substanciais e passageiros (pulsos) na *taxa respiratória* e na *síntese de etileno* (Fig. 19.11). Ambos não ocorrem em frutos não-climatéricos. Enquanto estes independem de etileno para amadurecer, esse hormônio tem se mostrado crucial na coordenação e conclusão do amadurecimento nos frutos climatéricos. Na Tabela 19.1 são apresentados exemplos de ambos os tipos de frutos.

O estado da arte sobre a ação regulatória do etileno nas plantas indica a atuação de dois sistemas, diferentes entre si pela forma de controle da síntese desse hormônio. O sistema 1 opera sob baixas concentrações de etileno, sendo encontrado em frutos verdes, tanto climatéricos quanto não-climatéricos, como também durante o desenvolvimento vegetativo normal da planta. Caracteriza-se pela ação *auto-inibitória* do etileno sobre a sua própria síntese (controle negativo). O sistema 2, por seu lado, funciona em condições de níveis elevados de etileno, durante o amadurecimento de frutos climatéricos e na senescência floral; nele, a produção de etileno é *autocatalítica*, na qual a presença do etileno, seja ela endógena ou exógena, estimula a sua própria síntese (retroalimentação, *feedback* positivo). Ver adiante.

Iniciada a maturação numa determinada região do fruto, ela se propaga às regiões vizinhas na medida em que o etileno se difunde, integrando o processo através de todo o órgão. A natureza gasosa desse hormônio desempenha um papel fundamental na rapidez e coordenação da maturação. Relativamente ao pico respiratório, embora ainda não muito bem compreendido, seus efeitos são bastante evidentes sobre a oxidação de substratos diversos e na biossíntese de novas substâncias. Nos frutos não-climatéricos, as alterações próprias do amadurecimento se dão em um espaço de tempo mais prolongado.

Embora algumas rotas bioquímicas particulares da maturação possam variar tanto entre espécies quanto em frutos climatéricos e não-climatéricos, tipicamente, em quaisquer dos casos,

**FIGURA 19.11**

Pulsos da síntese de etileno e taxa respiratória em frutos de banana, durante 12 dias após a colheita. (Figura gentilmente cedida pelo Dr. Eduardo Purgatto — Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.)

TABELA 19.1

Exemplos de frutos climatéricos e não-climatéricos de importância na alimentação humana.
CL = climatérico; NC = não-climatérico

Nome científico	Nomes comuns	Família	Tipo
<i>Actinia deliciosa</i>	Quiuí, quivi (kiwi, kiwi fruit)	Actiniácea	CL
<i>Adasonia digitata</i>	Baobá (baob)	Bombacácea	CL
<i>Anacardium occidentale</i>	Caju (cashew)	Anacardiácea	NC
<i>Ananas comosus</i>	Abacaxi (pineapple)	Bromeliácea	NC
<i>Annona cherimola</i>	Cherimóia (cherimoya)	Anonácea	CL
<i>Annona squamosa</i> L. × <i>A. cherimola</i> Mill.	Atemóia (atemoya)	Anonácea	CL
<i>Annona muricata</i>	Graviola (soursop)	Anonácea	CL
<i>Annona squamosa</i>	Fruta-do-conde, pinha, ata (sugar-apple)	Anonácea	CL
<i>Artocarpus altilis</i>	Fruta-pão (breadfruit)	Morácea	CL
<i>Artocarpus heterophyllus</i>	Jaca (jack fruit)	Morácea	CL
<i>Asimina triloba</i>	(Pawpaw)	Anonácea	CL

TABELA 19.1 CONTINUAÇÃO

Nome científico	Nomes comuns	Família	Tipo
<i>Averrhoa carambola</i>	Carambola (<i>carambola</i>)	Oxalidácea	NC
<i>Borojoa patinoi</i>	Borojó (<i>borojo</i>)	Rubiácea	NC
<i>Carica papaya</i>	Mamão (<i>papaya</i>)	Caricácea	CL
<i>Citrus aurantifolia</i>	Lima, lima-da-ásia, limão-galego (<i>lime</i>)	Rutácea	NC
<i>Citrus medica</i>	Pomelo, cidra (<i>pummelo</i>)	Rutácea	NC?
<i>Citrus paradisi</i>	Grapefruit	Rutácea	NC?
<i>Citrus reticulata</i>	Tangerina (<i>mandarin</i>)	Rutácea	NC?
<i>Citrus sinensis</i>	Laranja (<i>orange</i>)	Rutácea	NC
<i>Diospyros digyna</i>	Sapota-preta, graxa (<i>black sapote</i>)	Ebenácea	CL
<i>Diospyros kaki</i>	Caqui (<i>oriental persimmon</i>)	Ebenácea	CL
<i>Durio zibethinus</i>	Durião (<i>durian</i>)	Malvácea	CL
<i>Eugenia brasiliensis</i>	Grumixama (<i>grumichama</i>)	Mirtácea	NC
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga (<i>surinam cherry</i>)	Mirtácea	NC
<i>Feijoa sellowiana</i>	Feijoa (<i>pineapple guava</i>)	Mirtácea	CL
<i>Ficus carica</i>	Figo (<i>fig</i>)	Morácea	CL
<i>Fragaria</i> (Híbrido)	Moranginho (<i>strawberry</i>)	Rosácea	NC
<i>Litchi chinensis</i>	Lichia (<i>lychee</i>)	Sapindácea	NC
<i>Malus domestica</i>	Maçã (<i>apple</i>)	Rosácea	CL
<i>Mangifera indica</i>	Manga (<i>mango</i>)	Anacardiácea	CL
<i>Manilkara zapota</i>	Sapoti, sapota (<i>sapodilla</i>)	Sapotácea	CL
<i>Monstera deliciosa</i>	Banana-de-macaco (<i>monstera</i>)	Arácea	CL

TABELA 19.1 CONTINUAÇÃO

Nome científico	Nomes comuns	Família	Tipo
<i>Musa</i> sp.	Banana (banana)	Musáceas	CL
<i>Nephelium lappaceum</i>	Rambotão (rambutan)	Sapindáceas	NC
<i>Passiflora edulis</i>	Maracujá-roxo (purple passion fruit)	Passifloráceas	CL
<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Maracujá-amarelo (yellow passion fruit)	Passifloráceas	CL
<i>Passiflora quadrangularis</i>	Maracujá-açu (giant granadilla)	Passifloráceas	CL
<i>Persea americana</i>	Abacate (avocado)	Lauráceas	CL
<i>Paraqueiba sericea</i>	Umari, umari-roxo (umari roxo)	Icacináceas	NC
<i>Pouteria caimito</i>	Abiu (caimito)	Sapotáceas	CL
<i>Pouteria campechiana</i>	Sapota-amarela (canistel)	Sapotáceas	CL
<i>Pouteria sapota</i>	Mamei (mamey sapote)	Sapotáceas	CL
<i>Prunus persica</i>	Pêssego (peach)	Rosáceas	CL
<i>Prunus armeniaca</i>	Damasco (apricot)	Rosáceas	CL
<i>Prunus domestica</i>	Ameixa (plum)	Rosáceas	CL
<i>Prunus</i> sp.	Cereja (cherry)	Rosáceas	NC
<i>Psidium guajava</i>	Goiaba (guava)	Mirtáceas	CL
<i>Pyrus communis</i>	Pêra (pear)	Rosáceas	CL
<i>Rubus rosifolius</i>	Moranguinho silvestre (thornless blackberry)	Rosáceas	CL
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomate (tomato)	Solanáceas	CL
<i>Syzygium malaccense</i>	Jambo-vermelho (malay apple)	Mirtáceas	NC
<i>Syzygium samarangense</i>	Jambo-rosa (wax jambu)	Mirtáceas	NC
<i>Vitis vinifera</i>	Uva (grape)	Vitáceas	NC

as mudanças compartilham entre si uma série de atributos, como:

- 1 – modificação da cor devido à degradação da clorofila e ao acúmulo de carotenóides e/ou de flavonóides.
- 2 – alteração da textura (amolecimento), via modificações da estrutura da parede celular e do turgor celular.
- 3 – alterações no sabor, aroma e qualidade nutricional decorrentes de mudanças profundas nos padrões de açúcares e ácidos, e do aumento de substâncias voláteis.
- 4 – aumento da susceptibilidade a patógenos.

Conforme é dado observar na Tabela 19.1, os frutos climatéricos são encontrados numa ampla gama de angiospermas taxonomicamente distintas: dicotiledôneas e monocotiledôneas. Além disso, é conhecida a ocorrência de frutos climatéricos e não-climatéricos em variedades de uma mesma espécie, como em melão (*Cucumis melo*) (Fig. 19.12), ou entre espécies relacionadas, como melão e melancia, por exemplo.

Sob a perspectiva molecular-fisiológica, as diferenças entre ambos os tipos de frutos são ainda pouco compreendidas. Estudos recentes com ambos os tipos de frutos produzidos por variedades de uma mesma espécie ou espécies intimamente relacionadas têm lançado alguma luz sobre essa velha questão. Há, atualmente, evidências que indicam ser os fenótipos climatéricos originados pela aquisição da habilidade de síntese de etileno, de seu receptor, ou de suas vias de sinalização. Em genótipos climatéricos e não-climatéricos de melão (Périn *et al.*, 2002), observou-se nesses

últimos uma redução substancial na produção de etileno (Fig. 19.12A), na atividade da sintase do ácido aminociclopropano carboxílico (ACS) (Fig. 19.12B), na capacidade de síntese do ACC (Fig. 19.12C), bem como na habilidade de amolecimento (Fig. 19.12D). Além da deficiência na síntese de etileno, variedades de melão não-climatérico podem derivar também da insensibilidade à presença desse hormônio, manifestada por deficiência na abscisão, amolecimento e na própria síntese autocatalítica. Conforme esperado, ambas as deficiências (síntese e percepção) levam à produção de frutos com maturação incompleta, vida mais longa e abscisão retardada, resultando em notória dificuldade de colheita.

Regulação da síntese de etileno e a transição para a maturação

Conforme mostrado no capítulo sobre o etileno, as vias de síntese desse hormônio iniciam-se a partir do aminoácido metionina, que origina a S-adenosilmetionina (SAM); esta, pela ação da sintase do ACC (ACS), é transformada em ácido 1-aminociclopropano carboxílico (ACC), que oxidado pela enzima oxidase do ACC (ACO) origina o etileno.

A regulação da biossíntese de etileno por retroalimentação (*feedback* positivo, auto-estimulação ou autocatálise) representa um dos traços mais marcantes nos processos de amadurecimento de frutos climatéricos e na senescência floral. Nesses órgãos, exposições ao etileno, acetileno ou propileno resultam em aumentos substanciais na produção desse hormônio em consequência da indução das enzimas ACS e ACO, ambas codificadas por pequenas famílias gênicas.

Dentre os quatro genes envolvidos na síntese de ACS expressos em frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) — *LeACS1A*, *LeACS2*, *LeACS4* e *LeACS6* —, dois deles, *LeACS1A* e *LeACS4*, são induzidos logo no início da maturação (Fig. 19.13). Quando ainda verdes (sistema 1), predomina *LeACS6* e um baixo nível de expressão de *LeACS1A*. Nessa fase do desenvolvimento, o teor de etileno é mantido em patamares basais, de forma que o aumento na produção por meio das expressões de *LeACS1A*, *LeACS2* e *LeACS4* torna-se crítico para o início da maturação desses frutos.

O sistema 1 mantém-se em funcionamento ao longo do desenvolvimento do fruto até que uma competência para o amadurecimento seja adquirida, dando-se o início da transição (Fig. 19.13). Para tanto, há a necessidade também de mudança na sensibilidade dos tecidos ao etileno (competência), a qual supõe-se decorrer de sua produção contínua pelo sistema 1.

O gene *RIN* (*Ripening Inhibitor*) tem sido apontado como um potencial desencadeador do início da transição, aumentando a expressão de *LeACS1A*, que por sua vez induz o gene *LeACS4*. A indução de *RIN* no início da maturação parece ser independente de etileno, indicando a participação de um controle regulatório superior. Frutos homozigotos mutantes de tomate para esse gene (*rin*), além de não exibirem o aumento típico no teor de etileno, tiveram o amadurecimento severa-

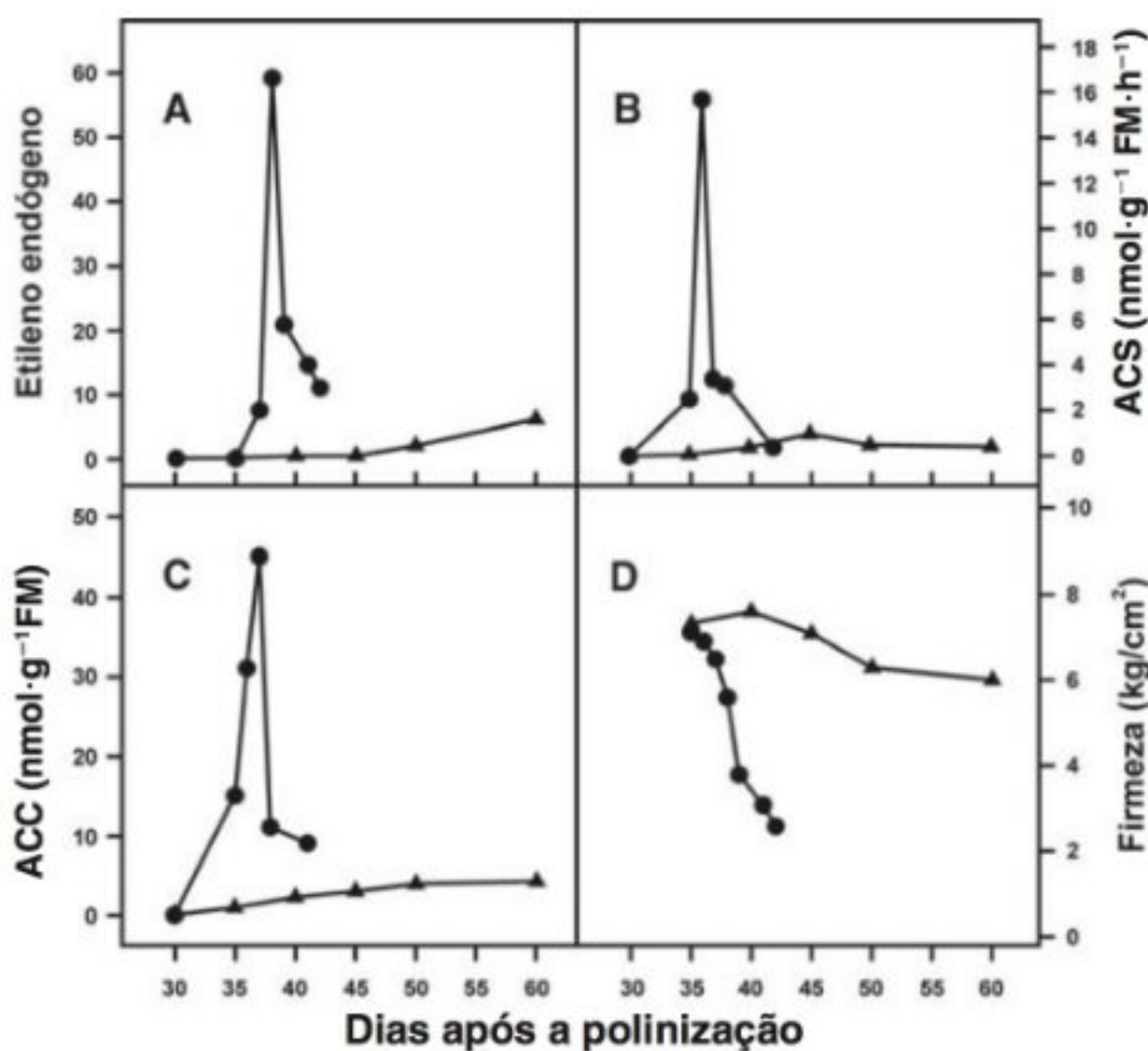
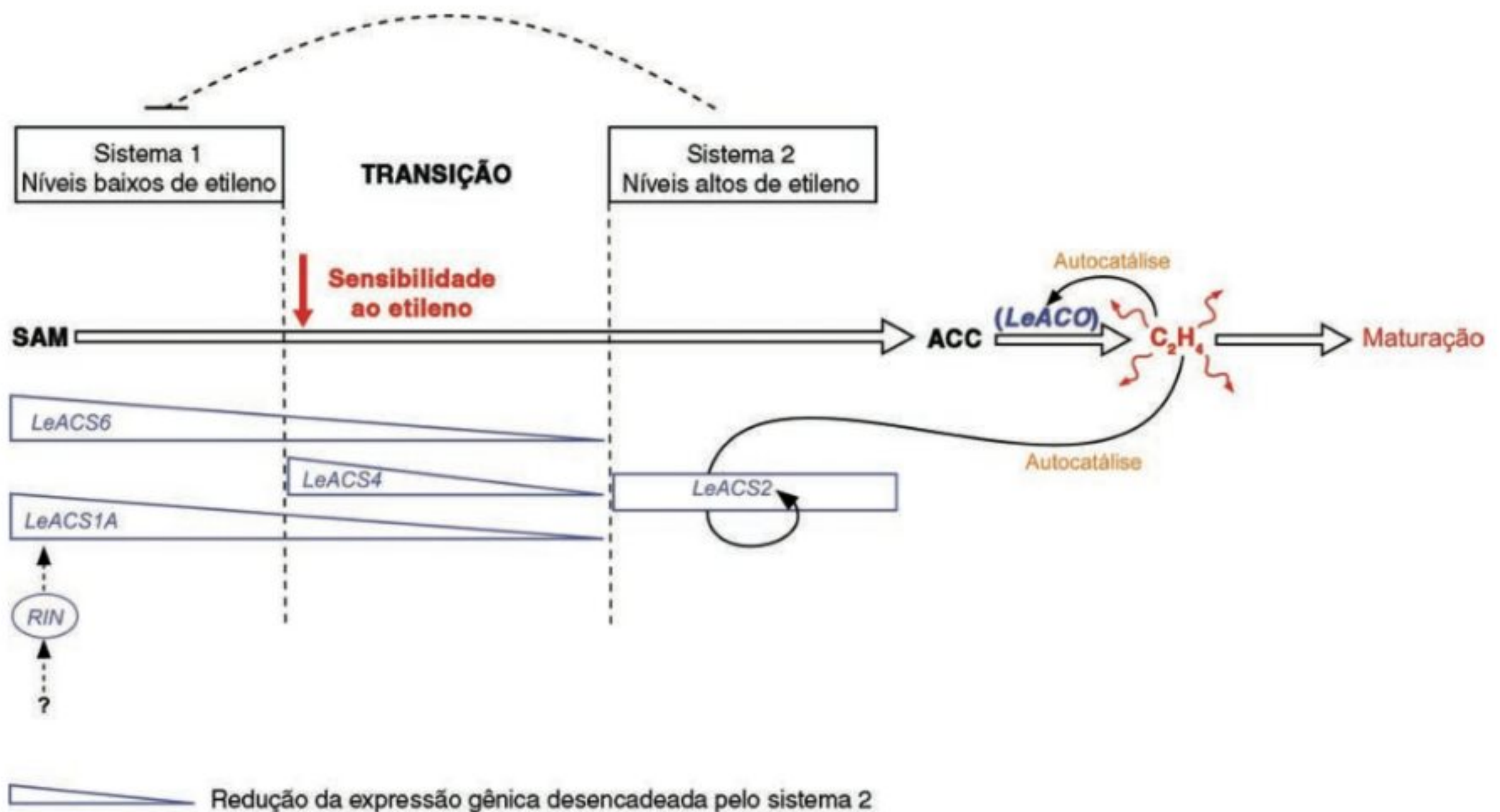


FIGURA 19.12

Parâmetros comparativos entre frutos de melão (*Cucumis melo*) climatéricos (●) e não-climatéricos (▲): A – concentração endógena de etileno (μl^{-1}); B – atividade da enzima sintase do ACC (ACS); C – concentração de ACC; D – grau de firmeza. (Reproduzida de Périn *et al.* *Plant Physiology*, 2002. American Society of Plant Biologists, Fig. 1, Vol. 129, página 301.)

**FIGURA 19.13**

Modelo de síntese autocatalítica de etileno na transição de frutos de tomate verdes (sistema 1) para maduros (sistema 2), levando-se em conta a participação de genes *LeACS* envolvidos na codificação da enzima sintase do ACC (ACS) e genes *LeACO* responsáveis pela codificação da enzima oxidase do ACC (ACO).

mente prejudicado. Como resultado da produção de etileno climatérico pela ação dos genes *LeACS1A* e *LeACS4*, desencadeia-se a expressão do gene *LeACS2*, a qual é mantida de forma intensa e autocatalítica durante a passagem do fruto verde para o estágio maduro.

Saliente-se ainda, na Fig. 19.13, que os níveis elevados de etileno gerados pelo sistema 2 exercem um efeito inibitório sobre o sistema 1, reduzindo as atividades de *LeACS1A* e *LeACS6* (*feedback* negativo ou auto-inibição). Portanto, a produção de etileno que acompanha a maturação de tomate coincide com uma mudança substancial na regulação de sua própria síntese, passando de um processo auto-inibitório para outro auto-estimulatório.

Ao término do período pré-climatérico, observou-se que a atividade da enzima ACO, responsável pela oxidação do ACC a etileno, precede a da enzima ACS, levando a acreditar que a primeira seja desencadeada pelo próprio estágio de desenvolvimento do fruto. De fato, os três genes que codificam para a síntese da oxidase do ACC (*LeACO*) em frutos de tomate têm suas atividades aumentadas justamente nessa fase, evidenciando que o primeiro estágio da síntese autocatalítica de etileno é desencadeado por um desses genes. Por sua vez, o etileno gerado induz a expressão dos genes responsáveis pela síntese das enzimas da sintase do ACC (*LeACS*), fechando a biossíntese autocatalítica desse hormônio no fruto e a transição para a maturação (Fig. 19.13).

Com relação à sensibilidade ao etileno, o primeiro receptor conhecido foi o Never Ripe (NR), cuja expressão do gene codificante aumenta significativamente durante o amadurecimento. Atualmente, conhecem-se seis genes envolvidos na codificação de receptores de etileno em tomate (*LeETR1* a *LeETR6*), dentre os quais está incluído o NR (*LeETR3*). Em frutos de tomate, observou-se que as atividades deles, medida pela abundância de RNA mensageiros, variava durante a maturação, bem como em outros órgãos (pétalas e sépalas) e na zona de abscisão de flores, folhas e frutos.

Foi mostrado em órgãos vegetativos e reprodutivos que as expressões dos genes *LeETR1* e *LeETR2* não se alteravam durante o desenvolvimento, mesmo frente a qualquer estímulo, inclusive ao do etileno. Contrariamente, os padrões de expressão dos genes *LeETR3*, *LeETR4* e *LeETR5* eram fortemente regulados. Assim por exemplo, durante a frutificação, mais precisamente durante a antese, a atividade elevada do gene NR no ovário decrescia 10 vezes até o crescimento final do fruto verde, para em seguida aumentar rapidamente 20 vezes no início do amadurecimento. Esse aumento relacionado ao amadurecimento pode ser tomado como um bom exemplo da importância do estágio do desenvolvimento do fruto na induzibilidade de genes dependentes do etileno: ou seja, o gene é induzido pelo etileno durante o amadurecimento, mas não o é enquanto o fruto estiver verde (Klee, 2002). Em alguns frutos, observou-se que a presença de auxina era inibitória ao amadurecimento.

A despeito da existência de uma massa substancial de informações a respeito da importância do papel do etileno em frutos climatéricos, experimentos com substâncias bloqueadoras da ação desse hormônio têm levantado a possibilidade de ele possuir alguma participação também na maturação de frutos não-climatéricos. Para tanto, mais estudos são necessários.

Pelo visto, portanto, é provável que a atividade concatenada desses genes seja a principal responsável pela sensibilidade variável das células ao etileno durante as fases de desenvolvimento e maturação. Como em outros tantos eventos mediados por fitormônios, os de iniciação, manutenção e finalização da maturação dependem de uma correta integração temporal orquestrada por genes-enzimas envolvidos na síntese-inativação do etileno e de seus receptores.

Mudança de cor

As mudanças na coloração da casca e da polpa dos frutos são as evidências mais perceptíveis do início da maturação. Para os animais frugívoros, incluindo o homem, ela sinaliza que o fruto tornou-se comestível. Do ponto de vista comercial, a mudança de coloração indica a época mais adequada de colheita, que se refletirá também na qualidade do fruto e na sua vida útil de prateleira.

A coloração avermelhada ou amarelada dos frutos maduros resulta da acumulação de antocianinas e carotenóides, e da diminuição no teor de clorofilas. Portanto, no que diz respeito aos pigmentos, o amadurecimento pode ser caracterizado como dois movimentos simultâneos, opostos e coordenados: um biossintético e outro degradatório, cada um dos quais conduzidos por cadeias enzimáticas específicas.

DEGRADAÇÃO DA CLOROFILA

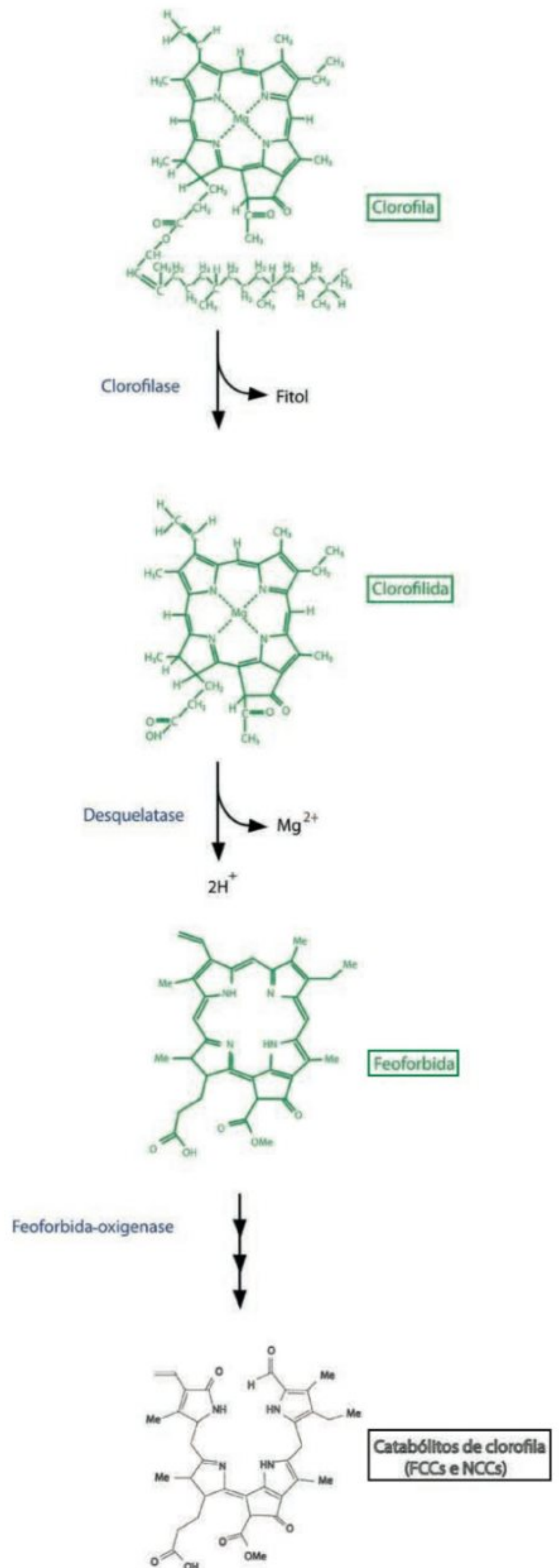
Diferentemente do processo de síntese da clorofila, comumente encontrado em textos de fisiologia vegetal, sua degradação é pouco lembrada, apesar de fazer parte de eventos fisiológicos importantes, como a senescência foliar e floral e o amadurecimento de frutos carnosos e secos. Bilhões de toneladas de clorofila são degradadas todos os anos, aparentemente, sem deixar sinal.

Os estudos a respeito têm sido realizados em folhas senescentes. É muito provável que nos frutos os eventos básicos de degradação sejam os mesmos, ou no mínimo muito parecidos. A despeito de a primeira enzima envolvida na degradação desse pigmento — *clorofilase* — ter sido descoberta há quase um século, a inexistência de equipamentos capazes de detectar e mensurar seus derivados incolores fez com que praticamente nenhum avanço importante fosse obtido nesse período.

Na Fig. 19.14 é apresentado um esquema da degradação da clorofila proposto por Matile e colaboradores em 1996. O

FIGURA 19.14

Degradação enzimática da molécula de clorofila. (Modificada de Matile *et al.*, 1996.)



processo inicia-se pela remoção da longa cauda fitol ($C_{20}H_{39}$) pela clorofilase, originando a *clorofilida*. Essa enzima localiza-se junto às membranas externas dos cloroplastos, espacialmente separadas das moléculas de clorofila a e b ancoradas nas membranas internas (tilacóides), prevenindo a degradação desses pigmentos antes do início da senescência foliar e do início da maturação dos frutos. O segundo movimento enzimático é a eliminação do átomo de magnésio, resultando numa molécula ainda verde, a *feoforbida*. No terceiro passo a enzima *feoforbida-oxigenase* rompe o anel porfirínico, gerando catabólitos incolores. Alguns desses catabólitos são fluorescentes (FCCs), outros não (NCCs). Nesse processo degradatório da molécula, é essencial a presença de oxigênio, ATP, ferredoxina reduzida, NADPH e ferro, indicando um considerável gasto de energia.

A hidrólise da clorofila não vai além da clivagem do anel porfirínico, sendo os catabólitos resultantes, agora mais hidrofílicos, acumulados na solução vacuolar das próprias células do mesófilo foliar. É provável que nos frutos a acumulação se dê da mesma forma, nas células do pericarpo.

Segundo Hörtensteiner & Feller (2002), os quatro átomos de nitrogênio presentes no que restou das moléculas de clorofila não são translocados para outras partes da planta. Com a queda das folhas, o nitrogênio seria aproveitado pelos microrganismos do solo. No caso dos frutos, seriam ingeridos pelos animais dispersores.

ANTOCIANINAS

As antocianinas são *flavonóides* pigmentados, uma classe de substâncias fenólicas bastante abundante nos vegetais. Esses pigmentos ocorrem em diferentes partes das plantas, conferindo coloração vermelha, púrpura, cor-de-rosa e azul. Flores e frutos são os órgãos onde se depositam em maiores quantidades, exercendo importante papel na atração de polinizadores e dispersores de sementes, respectivamente.

A molécula de antocianina encontra-se geralmente ligada a açúcares como glicose e galactose. Quando esses são removidos, a parte remanescente da molécula que continua ainda colorida passa a se chamar *antocianidina*. Essa forma, efetivamente, é a predominante na coloração de frutos e flores (Fig. 19.15).

São conhecidos doze tipos de antocianidinas, cujos nomes derivam da primeira planta donde foram isoladas, como cianidina, pelargonidina, petunidina, delphinidina e malvinidina. Nos frutos de moranguinho, 92% dos pigmentos totais são representados por pelargonidina, sendo que seis genes já foram isolados na sua síntese. Dentre esses, o gene envolvido na codificação da enzima sintase da antocianidina, por exemplo, teve sua expressão aumentada sete vezes durante o desenvolvimento do receptáculo floral ("fruto") do moranguinho.

A cor de cada tipo de antocianidina depende, fundamentalmente, da quantidade de grupos hidroxila (OH) ou metila (CH_3) presos ao anel B da molécula. A maior presença de hidroxilas favorece a absorção de comprimentos de onda mais longos do espectro luminoso, deixando passar os comprimentos de onda mais curtos da faixa do azul. Contrariamente, o maior número de grupos metila favorece a absorção de comprimentos de onda mais

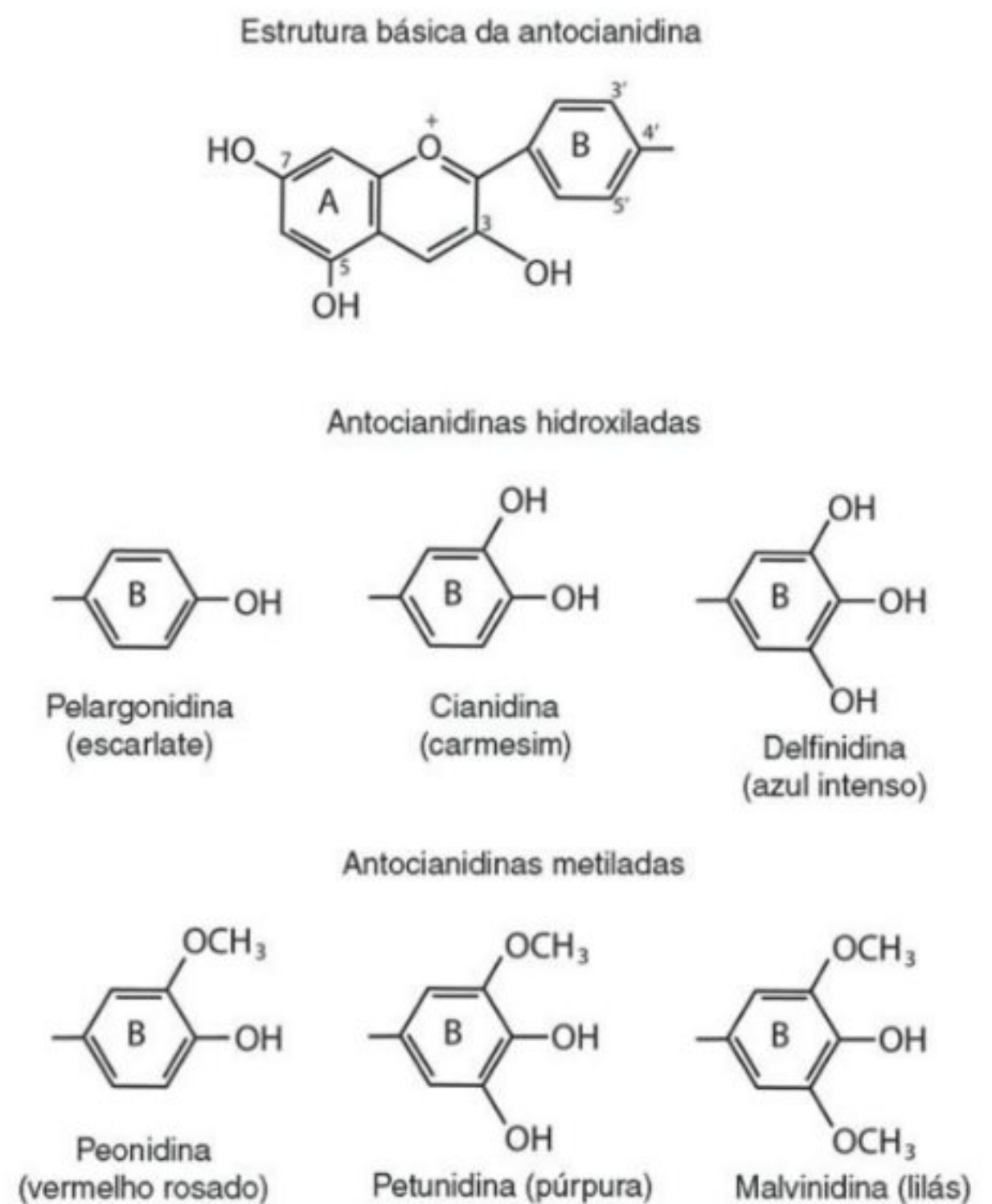


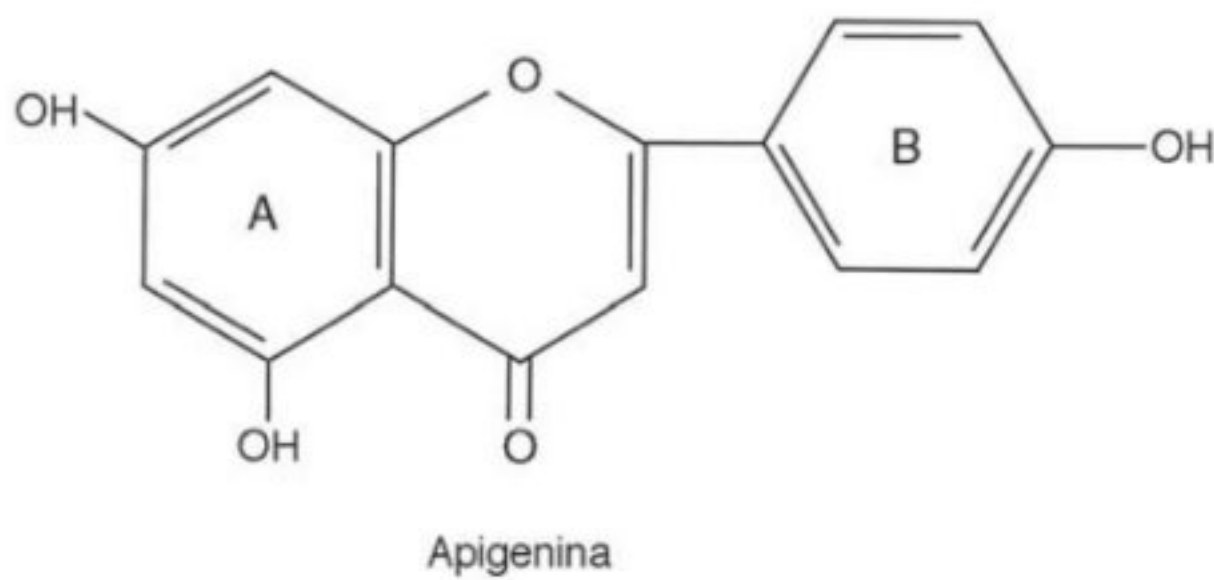
FIGURA 19.15

Estrutura básica de uma antocianidina (A) e do anel B da molécula com diferentes graus de metilação (CH_3) e hidroxilação (OH).

curtos, resultando na coloração avermelhada da antocianidina (Fig. 19.15). Além disso, as hidroxilas conferem às antocianidinas maior hidrossolubilidade, favorecendo o acúmulo na solução vacuolar. A cor das antocianidinas pode alterar-se intensamente com a variação do pH. Em soluções ácidas a coloração torna-se avermelhada, enquanto em soluções com pH mais elevado adquire tons azulados. Essas mudanças são reversíveis. Em muitas flores, a mudança de coloração das pétalas ao longo de suas vidas está relacionada ao valor do pH interno de suas células.

Outros flavonóides podem conferir coloração às plantas; é o caso das *flavonas* (Fig. 19.16). Esses pigmentos são responsáveis pela cor branca das pétalas, na ausência dos quais seriam translúcidas. A coloração branca de frutos da berinjela-branca e do jambo-branco talvez se deva à presença desses pigmentos. Além de flavonas, nas flores, nas folhas e nos frutos é comum também a presença de flavonóis. Flavonas e flavonóis são importantes filtros de UV, fundamentais para a preservação da integridade de ácidos nucleicos e outras substâncias no interior das células.

Embora as antocianidinas possam ser sintetizadas no escuro, a luz possui um efeito estimulatório substancial na sua produção. Isso vale também para o acúmulo das demais substâncias fenólicas. Vale lembrar que frutos acumuladores de antocianidinas costumam apresentar coloração mais acentuada no lado mais iluminado. Os comprimentos de onda azul e vermelho a

**FIGURA 19.16**

Estrutura de uma flavona responsável pela coloração branca de flores e possivelmente também de frutos.

650 nm têm-se mostrado os mais efetivos nesse processo. O fato de ambos atuarem mais efetivamente na fotossíntese favorece a geração de concentrações mais elevadas de açúcares, cujo excesso pode ser desviado para a via de síntese de antocianinas. É interessante notar ainda que o acúmulo de açúcares decorrente do estresse nutricional, como a deficiência de nitrogênio e fósforo por exemplo, incrementam o acúmulo de antocianinas em diferentes partes da planta. A presença de frutos com coloração avermelhada intensa pode ser usada na sintomatologia de deficiência desses nutrientes no solo.

CAROTENÓIDES

São pigmentos amarelos e alaranjados que ocorrem junto com as clorofilas no interior de cloroplastos, ou isoladamente em plastídeos especializados, os *cromoplastos*, comumente encontrados na raiz de cenoura, frutos de tomate e flores amarelo-alaranjadas. Os carotenóides ocorrem tanto em plantas quanto em animais, que os obtêm das primeiras. Sua síntese independe da luz, tanto que plantas crescidas no escuro (estioladas) os possuem. Sob condições normais, a presença deles é mascarada pela clorofila, que ocorre em concentrações muito mais elevadas. Todavia, no outono, com a degradação das clorofilas e a manutenção dos carotenóides, estes mais estáveis, a folhagem das árvores adquire uma coloração alaranjada ou amarela intensa.

Os carotenóides são substâncias terpênicas com 40 átomos de carbono alinhados numa longa cadeia aberta de hidrocarbonetos (Fig. 19.17) ou que apresentam um ou dois anéis nas extremidades. São, portanto, pigmentos lipossolúveis, ancorados junto às membranas lipoprotéicas dos plastídeos.

Dependendo da presença ou ausência de oxigênio nas moléculas, os carotenóides são divididos em *carotenos* (beta-caroteno, licopeno) e *xantofilas* (luteína, zeatina). As moléculas dessas últimas, por possuírem átomos de oxigênio, apresentam menor grau de lipossolubilidade.

Esses pigmentos exercem importantes funções nas plantas, como na absorção da luz azul na fotossíntese, proteção do aparato fotossintético da iluminação excessiva, além de atuarem como moléculas precursoras da síntese de AG e ABA (ver Caps. 5, Fotossíntese, 11, Giberelinas, e 12, Ácido Abscísico). Na dieta

animal e humana o beta-caroteno atua como precursor da vitamina A, cuja deficiência pode levar à xerofthalmia, à cegueira e até à morte prematura.

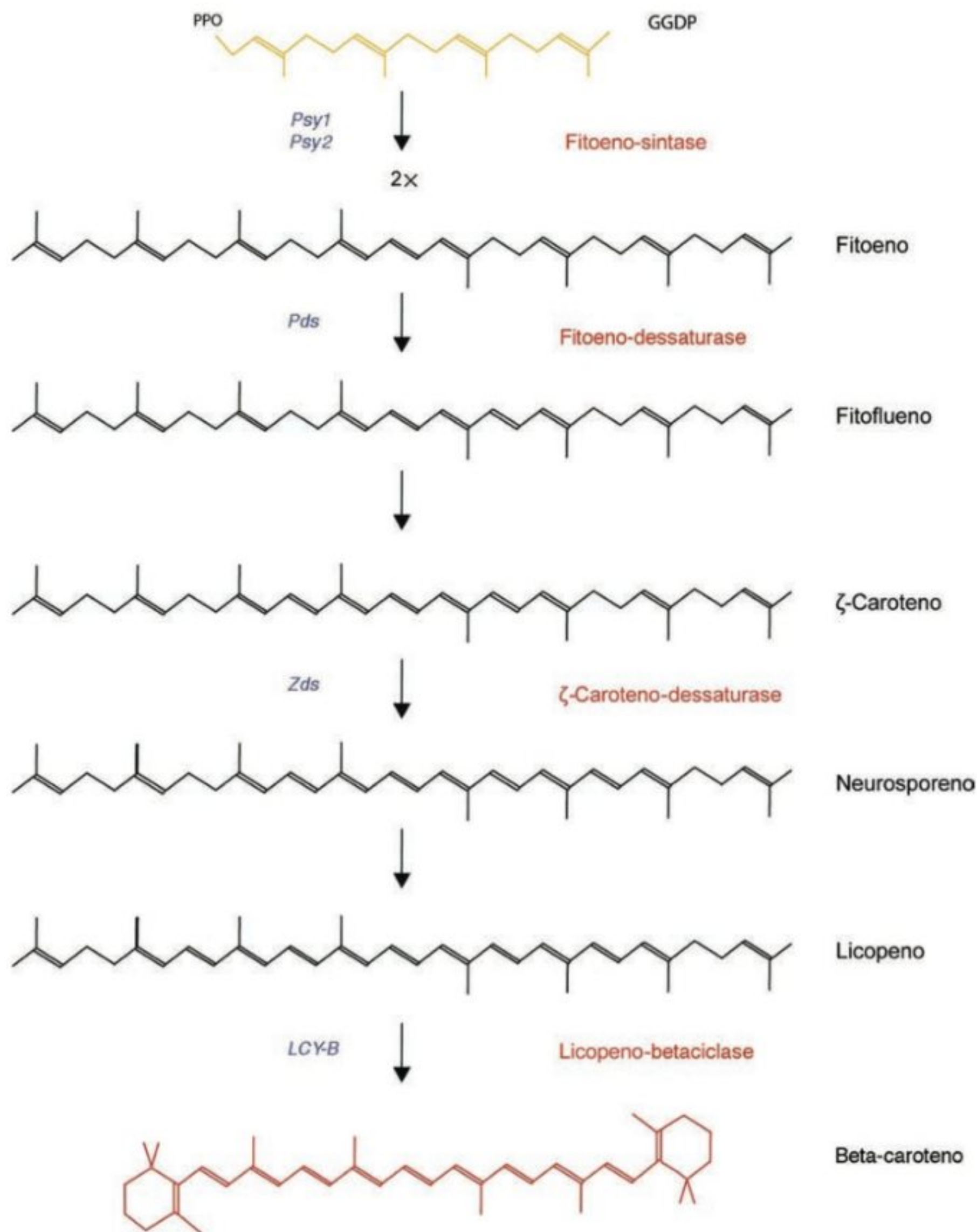
Frutos de tomate quando ainda verdes possuem essencialmente os mesmos carotenóides encontrados nas folhas: beta-caroteno, luteína e violaxantina. Apenas quando no início da mudança de coloração (estágio de vez ou “*breaker*”) iniciam a síntese e acumulação de licopeno, cuja concentração no fruto maduro pode aumentar 500 vezes (90% do total), contra apenas 5-10% de beta-caroteno.

Os carotenóides são produzidos a partir da condensação de duas moléculas de geranylgeranyl difosfato (GGDP — envolvido também na síntese a AG e ABA), cada uma delas com 20 átomos de carbono, reação que é catalisada pela enzima *sintase do fitoeno*. No tomate foram identificados dois genes que codificam para essa enzima chave: *Psy1* e *Psy2*. O primeiro expressa-se predominantemente nos cromoplastos, contribuindo amplamente para o acúmulo de licopeno no fruto em maturação. O segundo atua apenas nos cloroplastos dos tecidos verdes, inclusive frutos verdes, com importância limitada na carotenogênese típica da maturação de tomate. Nessa fase, a abundância de carotenóides totais aumenta concomitantemente com a diminuição no teor de clorofilas — transformação dos cloroplastos em cromoplastos —, nos quais predominam cristais de licopeno localizados junto às membranas. Apesar de as enzimas envolvidas na carotenogênese atuarem no estroma dos plastídeos, seus genes codificantes encontram-se nos núcleos das células. Na Fig. 19.17 são indicadas as enzimas e seus genes codificantes logo no início da maturação de frutos de tomate, quando ocorre a ativação dos genes *Psy1*, *Pds* e *Zds*, com o conseqüente acúmulo de licopeno, e a desativação dos genes *LCY-B*, envolvidos na síntese de beta-caroteno e zeaxantina.

Amolecimento dos frutos

Quando frutos carnosos alcançam o estágio de vez, é desencadeado juntamente a outros eventos típicos da maturação o processo de amaciamento. De um ponto de vista prático, o amolecimento representa não apenas o estágio favorável ao consumo pelos animais frugívoros, mas também um importante parâmetro de valor na cadeia comercial, podendo influenciar, por exemplo, a frequência de colheitas, a duração nos pontos de vendas, a deterioração por microrganismos, o transporte, a armazenagem etc.

Na maturação dos frutos, o amolecimento reflete essencialmente a ocorrência de alterações progressivas nas macromoléculas constituintes (polímeros) das paredes celulares, fazendo com que elas se tornem mais hidratadas, intumescidas e moles. A despolimerização e a solubilização enzimática das pectinas da lamela média (cimento intercelular) tem como resultado uma considerável perda de *adesão* entre as células, determinando a textura dos frutos. Conforme apresentado no Cap. 8 — Parede Celular, as pectinas (do grego *pektos* = gelificar) constituem uma mistura de polissacarídeos ricos em ácido galacturônico (elevada afinidade pela água), formando uma rede péctica por toda a finíssima camada da lamela média (30 nm de espessura), infiltrando-se na parede primária das células. Frutos nos quais o mesocarpo e

**FIGURA 19.17**

Principais passos da biossíntese de carotenóides a partir da síntese de fitoeno e as reações de dessaturação relacionadas à formação de licopeno e demais carotenóides cíclicos. (Modificada de Bramley PM, 2002.)

o endocarpo sofrem amolecimento durante a maturação desenvolvem paredes celulares espessas e ricas em pectinas.

A solubilização das paredes, ainda que parcial, permite que as células deslizem umas sobre as outras, ou separem-se entre si, determinando a chamada *textura* do fruto. À medida que o fruto amadurece, diminui progressivamente a adesão celular, podendo nos estágios mais avançados dificultar a ruptura das células pela mastigação e a liberação de seus conteúdos, ocasionando a perda de sabor. Em várias partes do Brasil, essa fase é chamada popularmente de “fruta passada”.

Quando ainda verde, após as células e o fruto terem alcançado o tamanho máximo (“*mature green*”), tem início a hidrolisação dos componentes da parede celular, que pode variar conforme o fruto. Em frutos com textura mais mole como o tomate, ela se inicia mais cedo, enquanto nos frutos mais duros como a maçã ela se estabelece mais tarde. O intumescimento e o amolecimento das paredes celulares são mais evidentes em frutos com textura mais macia, como abacate e mamão, por exemplo. Frutos sem o intumescimento das paredes celulares apresentam textura bem mais firme e quebradiça, como na maçã.

Vale lembrar que o amolecimento das paredes celulares é acompanhado por uma diminuição do turgor celular em resposta ao aumento na concentração de solutos nos espaços da parede e ao afrouxamento dessas, ambos produtos da atividade de diferentes enzimas.

A degradação parcial dos componentes da parede celular na maturação dos frutos é orquestrada pela atividade de enzimas hidrolíticas de polímeros e de enzimas envolvidas na ruptura de ligações entre essas macromoléculas (afrouxamento da parede).

Praticamente, todos os componentes da parede celular podem ser hidrolisados por enzimas específicas. Assim, a despolimerização das pectinas é dada pelas poligalacturonases (PG) e pelas esterases da metil pectina (PME), a da celulose pelas celulasas (β -1-4 glucanases), e a das hemiceluloses, como os xiloglucanos, por enzimas como a xiloglucano endotransglicosilase (XET), β -galactosidase e β -glicosidase. As expansinas atuam na quebra das ligações entre as hemiceluloses e as microfibrilas de celulose. Um bom entendimento sobre a síntese, composição e degradação da parede celular pode ser encontrado no Cap. 8 — Parede Celular. Conforme assinalado anteriormente neste capítulo, as expansinas desempenham um papel especialmente importante também durante a fase III do crescimento do fruto, atuando na expansão celular mediada pela auxina. As atividades dessas enzimas variam amplamente entre os diferentes frutos. No abacate, por exemplo, a celulase mostrou-se 160 vezes mais ativada do que nos frutos de pêsego, e 770 vezes maior do que nos de tomate.

As poligalacturonases são tidas como as protagonistas mais conspícuas no amolecimento dos frutos. Todavia, ao contrário do que se acreditou durante um bom tempo, não são elas exatamente as desencadeadoras do processo de amolecimento. Conforme se verificou na polpa de tomate, esse processo é iniciado pela ação da esterase da metil pectina que remove os grupamentos metílicos da cadeia principal dessa substância, tornando-as então susceptíveis à ação das poligalacturonases (Koch e Nevins, 1989). Essas, por sua vez, agem na hidrolisação das ligações glicosídicas entre as unidades de ácido galacturônico, digerindo as pectinas. Segundo Giovannoni (2004), a expressão de genes responsáveis pela PME é regulada pelo etileno e ocorre tão logo começa o amadurecimento de frutos de tomate. Ainda nesse fruto, a atividade do gene PG, codificante para a poligalacturonase, chega a ser responsável por cerca de 1% do total dos RNAm encontrados nos frutos em maturação. Nicholass *et al.* (1995) demonstraram, em frutos de tomate, que o gene promotor da expressão da PG era de fato altamente sensível à presença do etileno.

Ampliando a sugestão de uma coordenação temporal da atividade enzimática nas mudanças da parede celular, há evidências de que as atividades da β -galactosidase (hidrólise de hemicelulose) e das expansinas (envolvidas na maturação) teriam efeitos no controle das atividades de outras enzimas envolvidas no amolecimento do fruto (Brummel & Harpster, 2001).

A participação do etileno na atividade de enzimas relacionadas ao amolecimento celular na maturação foi demonstrada recentemente em outro fruto climatérico, o melão (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud.). Utilizando mutantes para a síntese de etileno, causada pela supressão do gene ACO, verificou-se que o

amolecimento desses frutos era totalmente abolido. Complementarmente, nas plantas normais esse hormônio exercia um papel chave no controle de genes que codificavam para a poligalacturonase, celulasas e expansinas. No caso específico da primeira enzima, o acúmulo de RNAm decorrentes da atividade dos genes PG de melão (MPG1, MPG2 e MPG3) coincidia, consistentemente, com o pico de produção de etileno ocorrido no 43º dia após a polinização (Nishiyama *et al.*, 2007).

Do anteriormente exposto, é dado concluir que existem de fato boas evidências favoráveis ao papel do etileno sobre a regulação gênica específica e a síntese de enzimas hidrolíticas de parede durante a maturação. Entretanto, são ainda praticamente desconhecidos os mecanismos reguladores do amolecimento das paredes celulares de frutos não-climatéricos, nos quais o amaciamento da parede independe de uma elevação na concentração de etileno.

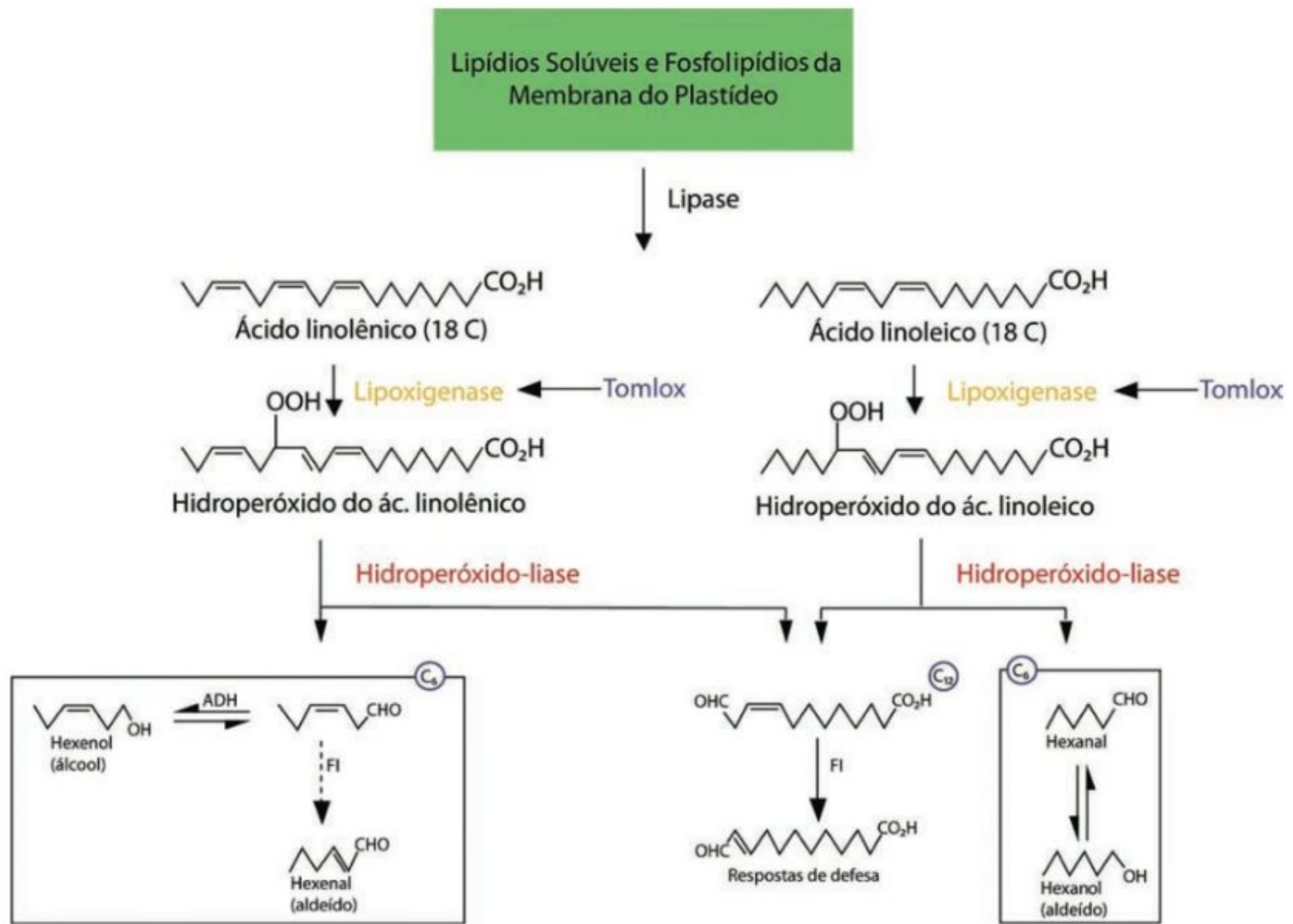
Sabor-Aroma

O sabor e o aroma dos frutos resultam de complexas interações entre substâncias de naturezas diversas, algumas voláteis, como ésteres, aldeídos e álcoois, e outras não-voláteis, como açúcares e ácidos orgânicos. A adstringência de certos frutos, principalmente quando ainda verdes, é conferida especialmente por taninos e polifenóis.

Aroma e sabor, embora perceptíveis por órgãos distintos, possuem propriedades organolépticas intimamente relacionadas. A perda da sensação de sabor quando a olfação é prejudicada, situação essa bastante comum quando estamos gripados, é um bom exemplo disso.

As diferenças de aroma entre frutos de tomate de variedades distintas devem-se, em boa medida, a variações na produção de substâncias voláteis. Nesses frutos já foram detectadas mais de 400 dessas substâncias, destacando-se dentre elas, pela importância, o hexanal, o hexenal, o hexenol, o 3-metilbutanal, o 3-metilbutanol, o metilnitrobutano e o isobutiltiazol. Em maçãs foram identificados mais de 300 compostos voláteis no início da maturação. Diferentes vias biossintéticas estão envolvidas na produção desses compostos. Assim, reações de descarboxilação e desaminação de aminoácidos levam à formação de 3-metilbutanal e 3-metilbutanol, enquanto a oxidação de ácidos graxos insaturados resulta na síntese de hexanal, hexenal e hexenol. Essas três substâncias são sintetizadas no interior de plastídeos, particularmente cloroplastos, a partir de ácidos graxos insaturados como o linolênico e linoleico, ambos com 18 carbonos. O sistema enzimático envolvido está localizado nas membranas tilacóides.

Na Fig. 19.18 é apresentado um esquema simplificado da via biossintética dessas substâncias voláteis. O primeiro passo é dado pela *lipoxigenase* (LOX) ao adicionar oxigênio molecular aos ácidos linolênico e linoleico, e a produção de hidroperóxidos (HPO) de ambos os substratos. Outra enzima, a liase de hidroperóxido, rompe as ligações entre os carbonos 12 e 13 (não exclusivamente) dos hidroperóxidos para formar aldeídos (6C), dos quais derivam os voláteis odoríferos. Através da enzima álcool-desidrogenase (ADH_2), os aldeídos são transformados nos álcoois hexanol e hexenal. Estudos indicam que as moléculas de 12 carbonos restantes podem ser transformadas em substâncias

**FIGURA 19.18**

Via biossintética resumida de substâncias voláteis que conferem aroma. FI, fator de isomerização. (Modificada de Hatanaka A, 1993.)

envolvidas em processos de defesa das plantas, como traumatina e ácido jasmônico, por exemplo, ou ainda no crescimento e desenvolvimento.

Vários tipos de lipoxigenases têm sido detectados numa ampla gama de vegetais, mesmo em animais e microrganismos. Nos frutos de tomate são conhecidos pelo menos cinco genes que podem codificar para essas enzimas — *TomloxA* a *TomloxE* — e exercem diferentes papéis no amadurecimento. Determinações dos teores de RNAm mostraram que nessa família gênica, *TomloxA,B,C* podem ser diferentemente regulados seja pelo estágio de amadurecimento, que desencadearia suas expressões, quanto pelo etileno, que as intensificaria (Griffiths *et al.*, 1999). *TomloxC* mostrou-se como o gene chave na síntese de lipoxigenase e produção de aldeídos (6C) geradores do aroma (Chen *et al.*, 2004). Tanto assim, que plantas de tomate transgênicas com baixa expressão desse gene apresentaram uma redução acentuada nas concentrações de hexanal, hexenal e hexenol; todavia, a adição de ácidos linolênico ou linoleico à polpa dos frutos elevava substancialmente a produção de substâncias aromáticas.

Nenhuma relação foi estabelecida até o momento entre o etileno e o gene codificante da ADH. Essa enzima atua predominantemente nos estágios mais adiantados da maturação, através da síntese de substâncias voláteis de natureza alcoólica, como hexanol e hexenol.

Substâncias de reserva

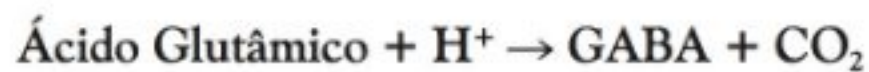
São muitas e variadas as substâncias acumuladas nos frutos durante o amadurecimento, destacando-se os açúcares, ácidos orgânicos, sais minerais, vitaminas, aminoácidos e proteínas. Certos frutos quando ainda verdes acumulam taninos, que atuam como substâncias de defesa. Abordaremos a seguir, de maneira resumida, apenas as duas primeiras substâncias.

A maior ou menor presença dos ácidos orgânicos acumulados nos vacúolos exerce profunda influência sobre a acidez dos frutos. Em bananas da variedade nanica no estágio de vez, foram encontrados cerca de 35 tipos diferentes de ácidos orgânicos, representando aproximadamente 50% da composição total dos frutos (Hernandes, 2005). Desses, pelo menos dois têm papel relevante na variação de pH: os ácidos málico e cítrico. Em frutos cítricos e no abacaxi, a presença de ambos é altamente determinante para os elevados valores de acidez.

Em frutos de abacaxi da variedade “Smooth Cayenne”, onde o ácido cítrico é o mais abundante, o maior grau de acidez coincide com o período de atividade mais intensa da enzima sintase do ácido cítrico. Entre a 6^a e a 15^a semana após o florescimento, a acidez aumentava de 1,4 meq/100 ml para 9,0 meq/100 ml, decaindo para 6,0 meq/100 ml nas duas semanas anteriores à colheita. Esse declínio coincidia com a elevação da atividade da

enzima aconitase, que atua sobre o ácido cítrico (Saradhulhat & Paull, 2007). Nos frutos cítricos o ácido que leva esse nome representa, isoladamente, 90% do total dos ácidos orgânicos. Estudos comparativos de frutas cítricas ácidas e não-ácidas mostraram que nestas últimas o teor de ácido cítrico era inferior ao de ácido málico, como foi o caso da lima-da-pérsia.

Cruzando resultados da expressão gênica com vários outros parâmetros fisiológicos da maturação de *Citrus clementina*, Cercós *et al.* (2006) propuseram que a redução dos teores de ácido cítrico nas fases finais do amadurecimento seria iniciada pela aconitase, encerrando-se com a transformação de ácido glutâmico em ácido gama-aminobutírico (GABA), com consumo de prótons (H^+), o que, segundo esses autores, explicaria a conspícua redução nos níveis de ácido cítrico e da acidez do citoplasma.



O metabolismo dos carboidratos nos frutos é regulado por uma complexa rede de sinais representados por fatores abióticos, como a temperatura, e bióticos, como hormônios e açúcares, capazes de controlar, concatenadamente, a expressão de genes envolvidos na síntese e degradação de amido e sacarose (Smeekens, 2000). O teor final de carboidratos resultaria então de uma atividade controlada de enzimas envolvidas nos eventos de síntese e degradação de amido e açúcares solúveis. A profunda complexidade do metabolismo dos carboidratos nos frutos tem a ver com sua dupla natureza de dreno, atuando durante o desenvolvimento como *dreno de utilização*, passando em seguida a funcionar como um típico *dreno de armazenamento* (fase de enchimento).

Na banana ocorre uma coincidência temporal conspícua entre o pico de etileno, a mobilização do amido e a concomitante síntese de sacarose, glicose e frutose. Na Fig. 19.19 é mostrada a mobilização do amido e a concomitante síntese de sacarose, glicose e frutose em frutos de banana variedade Nanicão, ao longo de 16 dias após a colheita. A maioria dos frutos climatérios

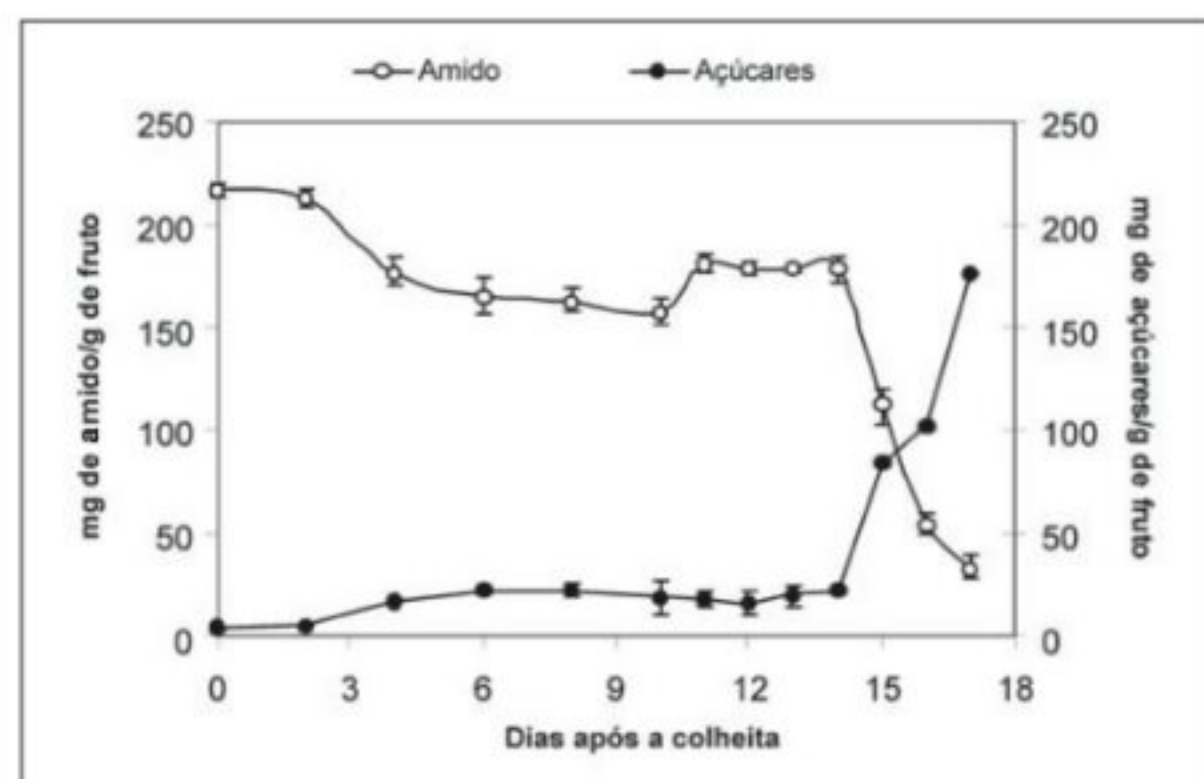


FIGURA 19.19

Degradação de amido e síntese de açúcares (sacarose + frutose + glicose) em frutos de banana variedade Nanicão durante 16 dias após a colheita. (Figura gentilmente cedida pela Dra. Beatriz R. Cordeunsi — Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.)

acumula grãos de amido em amiloplastos. Na banana verde esse polissacarídeo pode representar mais de 20% da massa fresca, decrescendo abruptamente na maturação para níveis inferiores a 1%, enquanto o de sacarose chega a alcançar 12% da massa fresca (Arêas & Lajolo, 1981).

Existem boas evidências de que a hidrólise dos grãos de amido inicia-se pela ativação de alfa-amilase, a qual rompe as ligações 1,4 do amido e amilopectina, gerando substratos para a ação das beta-amilases e outras amilases, como glicosidases e fosforilases.

Duas enzimas tomam parte na síntese de sacarose (glicose + frutose): a sacarose-fosfato-sintase (SPS) e a sacarose-sintase. Em frutos de banana a primeira parece ser a mais importante, com maior atividade durante a maturação, enquanto a segunda mostrou-se mais ativa durante o período de desenvolvimento do fruto, antes do climatério, declinando rapidamente após a colheita. Juntamente com outros açúcares solúveis, a sacarose desempenha um papel importante na entrada e acumulação de água nas células de frutos em maturação.

Frente à importância da sacarose para os vegetais, a regulação da SPS pode dar-se por diferentes sinais. Na fotossíntese de folhas de espinafre, sua ativação é influenciada pela luz (Huber e Huber, 1992). Em frutos de banana e kiwi, o estágio de desenvolvimento parece ser a causa principal, tendo em vista a abundância de RNAm codificados pelo gene SPS a partir de determinados estágios da maturação.

As invertases localizadas na parede celular e no citossol e a sacarose-sintase são as duas enzimas mais atuantes na clivagem da sacarose. Esta última, conforme indicado no próprio nome e como já mencionado anteriormente, tem papel também na ressíntese de sacarose. Portanto, as invertases figuram como os principais atores responsáveis pela manutenção das concentrações de glicose e frutose em frutos de tomate maduro.

A atividade orquestrada de enzimas localizadas em sítios celulares preferenciais, como as invertases, sacarose-sintase e SPS, faz com que a sacarose e suas hexoses constitutivas sejam encontradas em diferentes compartimentos das células também, como nos vacúolos — em maiores quantidades —, no citossol e na parede celular.

A sacarose figura de longe como a principal forma de transporte de carbono utilizada pelas plantas vasculares. Nos frutos maduros, onde seus teores são normalmente elevados, a eficiência do processo de descarregamento do floema adquire contornos críticos (ver Cap. 6, Transporte no Floema) para o desenvolvimento normal do fruto, assim como seus reflexos no rendimento agrícola.

O Brix, medida do conteúdo de sólidos solúveis, é um caráter de grande importância comercial e tem sido objeto permanente de estudos por melhoristas. Fridman e colaboradores (2004), estudando uma das regiões genômicas que determinam esse caráter localizada no cromossoma 9 de tomate, identificaram a presença de um gene que codifica para uma invertase de parede celular, LIN5E. Estudos mostraram que essa enzima era expressa exclusivamente nos tecidos condutores do ovário, placenta e pericarpo durante o desenvolvimento do fruto. Comparando as atividades das enzimas

LIN5, codificadas por *Solanum lycopersicum* (*L. esculentum*) e *S. penellii* (*L. penellii*), verificou-se uma maior eficiência cinética da enzima codificada pelo alelo de *S. penellii*. Os autores demonstraram que essa diferença de eficiência era determinada pela substituição de um único aminoácido, o ácido glutâmico de *S. lycopersicum*, pelo ácido aspártico em *S. penellii*. O trabalho revelou ainda que a presença de uma invertase mais eficiente nas paredes das células adjacentes ao floema era capaz de drenar maiores quantidades de sacarose, aumentando assim a disponibilidade de frutose e glicose para as células do fruto. Trata-se, no caso, de um bom exemplo da importância de uma única enzima na determinação da força de drenagem de um órgão armazenador de reservas.

Diferentemente do que ocorre nos frutos climatérios, nos não-climatérios, como na laranja por exemplo, apenas uma pequena proporção de síntese de açúcares solúveis ocorre durante a maturação, sendo a maior parte transportada de outras partes da planta.

Deiscência de frutos secos

A deiscência é uma estratégia adotada por muitos tipos diferentes de frutos para a dispersão das sementes. Ela envolve a diferenciação de células especializadas e espacialmente localizadas, orquestrada por eventos moleculares, bioquímicos e mecânicos.

Dada a importância que representa na produção de grãos, sua compreensão tem despertado interesse crescente na área de melhoramento vegetal. Paradoxalmente, os avanços obtidos no seu

entendimento não têm sido obtidos com plantas agrícolas, mas por meio de uma erva sem nenhuma importância comercial, a *Arabidopsis thaliana*, pertencente à família Brassicácea. Nessa planta, como nos demais membros da família, o ovário é constituído por dois carpelos fusionados. Após a maturação das sementes, ocorre a ruptura do fruto já seco, como consequência da separação longitudinal das valvas. Na Fig. 19.20, são mostrados o fruto e os tecidos relacionados à sua abertura (Ferrándiz, 2002).

Segundo essa autora, a *zona de deiscência* (ZD) da síliqua é constituída por uma estreita camada de células localizadas entre as valvas e o *replum*. Dela fazem parte a *camada de separação* (CS), compreendida entre o feixe vascular do *replum* e a camada de *células lignificadas* (CL) nas extremidades das valvas, estendendo-se ao longo de toda sua margem. Nas valvas, enquanto as células epidérmicas se expandem (*ena*), as da camada mais interna se lignificam (*enb*). Durante a dessecação do fruto, a camada epidérmica (*ena*) se desintegra (valva esquerda da figura), as valvas se desconectam do *replum*, e o fruto se abre. A camada de separação (CS) atua assim como uma superfície de fratura.

Os tecidos envolvidos na abertura são estabelecidos em estágios bem precoces da formação do ovário. Dos vários genes a eles relacionados vamos nos reportar a apenas três. As especificações da ZD e das margens das valvas são intensamente influenciadas pelos genes *SHATTERPROOF* (*SHP*) — *shatter*, do inglês: quebrar, romper —, afetando especialmente a camada de separação. O gene *FRUITFULL* (*FUL*) participa ativamente da formação das valvas, uma função complementar à dos genes *SHP*, atuando portanto de forma interativa no desenvolvimento

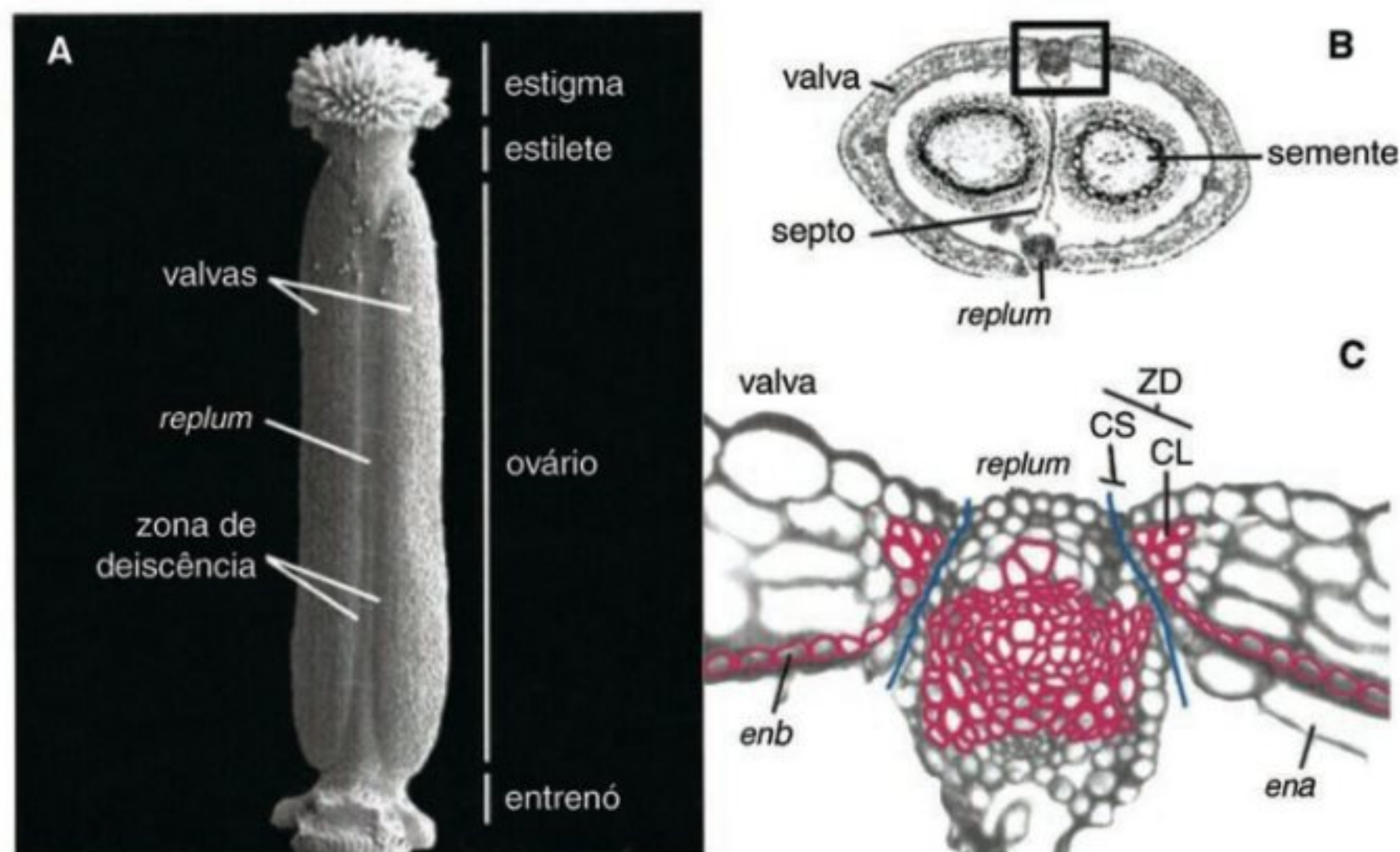


FIGURA 19.20

Micrografia eletrônica de varredura de ovário recém-polinizado de *Arabidopsis thaliana*. A. Seção transversal de fruto imaturo; B. detalhes histológicos da porção assinalada na figura B (retângulo). As paredes celulares lignificadas foram destacadas em cor rosa, e a superfície de fratura, por meio de uma linha azul. ZD, zona de deiscência; CS, camada de separação; CL, células lignificadas; *ena*, células mais externas da camada subepidérmica com paredes finas e alongadas; *enb*, células lignificadas da camada mais interna da subepiderme. (Reproduzida de Ferrándiz, C. *Journal of Experimental Botany*, 2002. Oxford University Press — Journals, Fig. 1, Vol. 53, página 2032.)

do ovário e inibindo-se mutuamente nos respectivos sítios de expressão. Os genes *INDEHISCENT* (*IND*) estão envolvidos na lignificação das células da ZD e das valvas. É interessante salientar que frutos mutantes para quaisquer desses genes não abrem as valvas, mesmo quando desidratados.

Tem sido postulado que a deiscência e a abscisão de folhas e de frutos secos seriam processos relacionados sob diferentes aspectos, como a degradação localizada de paredes celulares, tipos de enzimas hidrolíticas e morte celular programada. Em termos hormonais não se tem ainda bem caracterizado para o processo de deiscência dos frutos o sinergismo entre auxina e etileno, esse bem estabelecido para a abscisão daqueles órgãos (ver Caps. 9, Auxina, e 13, Etileno). Pelo lado enzimático, entretanto, na ZD de siliquas de *A. thaliana* foram detectadas atividades de enzimas como poligalacturonases (PG), celulasas e xiloglucano endotransglicosilase (XET), resultando na degradação das paredes celulares não lignificadas e enfraquecimento localizado das áreas de ruptura. As tensões mecânicas estabelecidas entre a camada lignificada das margens da valva (enb) e as células do mesocarpo dessecadas e com paredes enfraquecidas levam à ruptura da ZD.

Armazenagem de frutos

Uma vez completada a maturação dos frutos carnosos, esses entram naturalmente em processo de degradação, com a perda rápida de suas propriedades físico-químicas específicas. Apesar da inexorabilidade de deterioração de atributos importantes como a firmeza, cor, sabor, valor nutricional etc., esses processos podem ser minimizados por meio do uso de técnicas adequadas de pós-colheita, prolongando-se a vida útil dos frutos. Adicionalmente, tem-se também a minimização de outros parâmetros importantes, como a perda de peso devido à diminuição da taxa transpiratória; de distúrbios fisiológicos, como escaldaduras e degenerescências; de podridões provocadas por microrganismos, essas decorrentes de perdas das propriedades fungistáticas do fruto saudável. O controle

da taxa respiratória e do acúmulo de etileno têm sido os processos fisiológicos mais utilizados na minimização desses eventos.

O abaixamento de temperatura tem sido usado com sucesso no controle da respiração de frutos armazenados. Nessa condição, obviamente, outros parâmetros fisiológicos-bioquímicos próprios da maturação são igualmente diminuídos. Observou-se, em frutos de maçã, que a diminuição da temperatura de 25°C para 5% resultava numa redução da taxa respiratória em mais de quatro vezes. Menor taxa respiratória significa redução do consumo de reservas. Baixas temperaturas de armazenagem, se não bem controladas, podem causar desequilíbrios metabólicos em frutos de algumas espécies e cultivares, como a indisponibilização de substratos enzimáticos, acúmulo demasiado de produtos de reações essenciais etc. A eficiência do emprego de baixas temperaturas só ocorre dentro de certos limites. Temperaturas que atingem o ponto de congelamento (-1,1°C para a maçã, por exemplo) levam à formação de cristais de gelo e à desidratação das células, acompanhadas por rupturas nas membranas celulares, perdas da compartimentação celular e distúrbios metabólicos de toda ordem. Nesses casos, com o descongelamento, ocorre o extravasamento dos conteúdos celulares e um intenso processo de oxidação e escurecimento dos tecidos (Argenta, 2002).

Frutos tropicais podem apresentar sérios distúrbios mesmo quando armazenados a temperaturas superiores ao ponto de congelamento. Degenerescências em frutos de banana e mangas foram observadas sob temperaturas de 10 a 13°C, enquanto em mamão e abacaxi, em temperaturas levemente inferiores a 8°C.

Além do resfriamento, a taxa respiratória pode ser reduzida também por meio do controle das concentrações de oxigênio e gás carbônico. Os fundamentos envolvidos são bastante simples. Ao receberem menos O₂ os tecidos responderão com uma taxa respiratória menor, enquanto a presença de concentrações mais elevadas de CO₂ tendem também a reduzi-la.

Manuseando simultaneamente baixas temperaturas e concentrações de CO₂ e O₂, Kidd e West na Grã-Bretanha, em 1919,

TABELA 19.2
Faixas de temperatura, concentrações de gás carbônico e oxigênio e períodos de armazenagem de quatro variedades de maçãs produzidas no Brasil
(Argenta LC, 2002; tabela cedida gentilmente pelo autor.)

Cultivar	Temperatura (°C)		Concentrações (%)		Período (meses)	
	AC	Frio	CO ₂	O ₂	AC	Frio
Gala	0 a 1	0 a 1	1 a 2	1,5 a 2	5	3
Golden Delicious	0 a 0,5	0	3 a 4	1 a 2	7 a 8	5 a 6
Fuji	1 a 1,5	0 a 1	0 a 1	1,5 a 2	7 a 9	6 a 7
Granny Smith	0 a 0,5	0	1 a 3	1 a 2	7 a 9	5 a 7

demonstraram que maçãs armazenadas sob condições de baixa temperatura numa atmosfera artificial constituída de 10% de CO₂, 10% de O₂ e 80% de N apresentavam um tempo de conservação maior do que aquelas acondicionadas sob ar atmosférico normal (0,036% de CO₂, 20,95% de O₂ e 78,08% de N). Essa técnica passou a ser denominada de *atmosfera controlada* (AC), podendo envolver atualmente ainda o controle da umidade relativa do ar e a da concentração de etileno.

Uma das dificuldades encontradas no armazenamento sob AC é a concentração efetiva de O₂ no interior dos frutos, embora seja controlada pela concentração externa administrada com precisão. Daí a razão de se empregarem concentrações balanceadas de O₂ e CO₂ específicas para diferentes cultivares de maçã, como as produzidas no Brasil, conforme mostrado na Tabela 19.2.

Pergunta-se, freqüentemente, por que não armazenar os frutos na presença apenas de nitrogênio puro. A resposta é simples. Na ausência de O₂ seria desencadeada a respiração anaeróbica, com o agravante do acúmulo de etanol (ver Cap. 7, Respiração).

O sistema AC completo, apesar de mais vantajoso, tem seu emprego limitado pelos custos das instalações. Por meio dele, entretanto, é possível um controle mais efetivo da concentração de etileno emanado pelos frutos climatéricos. Para tal fim, pode-se lançar mão de diferentes aparatos, como a oxidação do etileno pelo permanganato de potássio (KMnO₄) impregnado em materiais porosos através dos quais o ar é forçado a circular, superfícies de adsorção do etileno, como carvão ativado, ou sistemas catalisadores, como superfícies de platina aquecidas a aproximadamente 175°C.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. J.R. Pirani, pela ajuda na área taxonômica, e à bióloga Lia Chaer, por algumas das ilustrações.

REFERÊNCIAS

- Arêas JAG, Lajolo FM. Starch transformation during banana ripening 1. The phosphorylase and phosphatase behavior in *Musa acuminata*. *J Food Bioch*, 1981; 5:19-37.
- Argenta LC. Fisiologia pós-colheita: maturação, colheita e armazenagem dos frutos. In *A Cultura da Macieira*, 1ª ed. Florianópolis, Epagri, 2002. p. 691-732.
- Bramley PM. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *J Exp Botany*, 2002; 53(nº especial):2107-2113.
- Brummel DA, Harpster MH. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Pl Molec Biol*, 2001; 47:311-340.
- Cercós M, Soler G, Iglesias DJ, Gadea J, Forment J, Talón M. Global analysis of gene expression during development and ripening of citrus fruit flesh. A proposed mechanism for citric acid utilization. *Pl Molec Biol*, 2006; 62:513-527.
- Chen G, Hackett R, Walker D, Taylor A, Lin Z, Grierson D. Identification of a specific isoform of tomato lipoxygenase (Tomlox C) involved in the generation of fatty acid-derived flavor compounds. *Plant Physiol*, 2004; 136:2641-2651.
- Ferrández C. Regulation of fruit dehiscence in *Arabidopsis*. *J Exp Botany*, 2002; 53(nº especial):2031-2038.
- Frary A, Nesbitt TC, Frary A, Grandillo S, Knaap E, Cong B, Liu J, Meller J, Elber R, Alpert KB, Tanksley SD. fw 2.2: A quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science*, 2000; 289:85-88.
- Fridman E, Carrari F, Liu Y-S, Fernie AR, Zamir D. Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interespecific introgressions. *Science*, 2004; 305:1786-1789.
- Gifford EM, Foster AS. *Morphology and Evolution of Vascular Plants*, 3ª ed. W.H. Freeman and Company, 1989, USA.
- Gillaspy G, Ben-David H, Gruissem W. Fruits: A developmental perspective. *Plant Cell*, 1993; 5:1439-1451.
- Giovannoni JJ. Genetic regulation of fruit development and ripening. *Plant Cell*, 2004; 16:S170-S180.
- Goetz M, Vivian-Smith A, Johnson SD, Koltunov AM. Auxin response factor 8 is a negative regulator of fruit initiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006; 18:1873-1886.
- Griffiths A, Barry C, Alpuche-Solis AG, Grierson D. Ethylene and developmental signals regulate expression of lipoxygenase genes during tomato fruit ripening. *J Exp Botany*, 1999; 50:739-798.
- Hatanaka A. The biogenesis of green odour by green leaves. *Phytochemistry*, 1993; 34:1201-1218.
- Hernandes AR. Perfil metabólico da banana durante o amadurecimento. Dissertação, 2005: 66p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas — USP.
- Hörtensteiner A, Feller U. Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *J Exp Botany*, 2002; 53:927-937.
- Huber SC, Huber JL. Role of sucrose-phosphate synthase in sucrose metabolism in leaves. *Pl Physiol*, 1992; 99:1275-1278.
- Klee HJ. Control of ethylene-mediated processes in tomato at the level of receptors. *J Exp Botany*, 2002; 53(nº especial):2057-2063.
- Koch JL, Nevins DJ. Tomato fruit cell wall: I. Use of purified tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase identify development changes in pectins. *Plant Physiol*, 1989; 91:816-822.
- Matile P, Hörtensteiner S, Thomas H, Kräuter B. Chlorophyll breakdown in senescent leaves. *Plant Physiol*, 1996; 112:1403-1409.
- Nicholass FJ, Smith CJS, Schuch W, Bird CR, Grierson D. High levels of ripening-specific reporter gene-expression directed by tomato fruit polygalacturonase gene-flanking regions. *Pl Molec Biol*, 1995; 28:423-435.
- Nishiyama K, Guis M, Rose JKC, Kubo Y, Bennett A, Wangjin L, Kato K, Ushijima K, Nakano R, Inaba A, Bouzayen M, Lactche A, Pech J-C, Bennett AB. Ethylene regulation of fruit softening and cell wall disassembly in charentais melon. *J Exp Botany*, 2007; 58:1281-1290.
- Ozga JA, Yu J, Reinecke DM. Pollination, development, and specific regulation of gibberellin 3β-hydroxylase gene expression in pea fruit and seeds. *Pl Physiol*, 2003; 131:1137-1146.
- Périn C, Gomez-Jimenez M, Hagen L, Dogmont C, Pech J-C, Latché A, Pitrat M, Lelièvre J-M. Molecular and genetic characterization of a non-climacteric phenotype in melon reveals two loci conferring altered ethylene response in fruit. *Plant Physiol*, 2002; 129:300-309.
- Saradhulhat P, Paull RE. Pineapple organic acid metabolism and accumulation during fruit development. *Scientia Horticulturae*, 2007; 112:297-303.
- Sastry KKS, Muir RM. Gibberellin: effect on diffusible auxin in fruit development. *Science*, 1963; 140:494-495.
- Smeekens S. Sugar-induced signal transduction in plants. *Ann Rev Pl Physiol*, 2000; 51:49-81.
- Tanksley SD. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *Plant Cell*, 2004; 16:S181-S189.
- Yao J-L, Dong Y-H, Morris BAM. Parthenocarpic fruit production conferred by transposon insertion mutation in a MADS-box transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98:1306-1311.

CAPÍTULO 20

Germinação

Victor José Mendes Cardoso

INTRODUÇÃO

Germinação é um conjunto de etapas e processos associados à fase inicial do desenvolvimento de uma estrutura reprodutiva, seja uma semente, esporo ou gema. Porém, de maneira tradicional, este conceito é aplicado ao crescimento do embrião — particularmente do eixo radicular — em sementes maduras de espermatófitas. Neste capítulo será abordada a germinação de sementes, embora o termo possa ser aplicado a outros eventos, como, por exemplo, o crescimento do tubo polínico (grãos de pólen) e do rizóide (esporos de pteridófitas) ou mesmo à brotação de gemas caulinares, como na cana-de-açúcar.

A SEMENTE

A semente representa um importante estágio no ciclo de vida de plantas superiores, contribuindo de maneira fundamental para a sobrevivência da espécie. Do ponto de vista biológico, a semente é o resultado de uma tendência evolutiva à redução do gametófito, que passa de um organismo individualizado e autotrófico (como nas briófitas) a um “parasito” do esporófito (como nas angiospermas). Assim, por exemplo, nos grupos mais evoluídos, o gametófito feminino é resultado do crescimento de um esporo (megásporo, n) retido dentro do megasporângio (óvulo, $2n$). Esse gametófito (dito endospórico) irá produzir o gameta feminino (oosfera, n), que por sua vez irá se fundir, durante o processo de fertilização, com o gameta masculino (núcleo gamético) formado dentro do gametófito masculino (pólen), produzindo o zigoto $2n$ que dará origem a um novo esporófito. O desenvolvimento desse esporófito jovem de segunda geração (embrião) dá-se à custa do esporófito anterior (planta-mãe), ocorrendo a separação entre ambos, em geral, ao término do desenvolvimento do embrião. O conjunto formado pelo embrião e pelas estruturas que o envolvem é chamado *semente*, que, dependendo da complexidade das estru-

turas envolventes, constitui o *diásporo* ou *unidade de dispersão*. Nas angiospermas, a semente madura é basicamente constituída por três estruturas: 1) o *embrião*, que se desenvolve a partir do zigoto diplóide formado pela fusão de um núcleo gamético com a oosfera; 2) o *endosperma*, geralmente triplóide, proveniente da fusão dos núcleos polares com o segundo núcleo gamético, e 3) o *tegumento* ou *testa*, formado a partir dos integumentos que envolvem o óvulo, sendo portanto de origem materna.

DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE

O desenvolvimento é o conjunto de modificações pelo qual passa a semente durante sua retenção na planta-mãe. Nessa fase, o desenvolvimento da semente é representado por variações quantitativas (crescimento) e qualitativas (diferenciação).

As etapas de formação do embrião (embriogênese) variam conforme os padrões de divisão e diferenciação celular característicos dos diferentes *taxa*. No caso do embrião de dicotiledôneas, seu desenvolvimento é dividido em diferentes estágios, de acordo com a forma aproximada que o embrião adquire com o aumento do número de células: linear, globular, trapezoidal, cordiforme e torpedo. O embrião maduro em geral é formado pelo *eixo embrionário* (ou eixo hipocótilo-radícula), que apresenta em uma de suas extremidades o primórdio caulinar (*plúmula*) e um ou mais *cotilédones* (folhas embrionárias) e, na outra extremidade, o primórdio radicular. Este pode ser uma raiz embrionária (*radícula*), enquanto o primórdio caulinar pode ser um caule embrionário formado por uma gema apical (*plúmula*) inserida no *epicótilo* (parte do caule acima da inserção dos cotilédones). A parte do eixo caulinar abaixo dos cotilédones é chamada *hipocótilo*, que é uma região de transição para a radícula.

O endosperma, por sua vez, completa o desenvolvimento geralmente antes do embrião, absorvendo material nutritivo

depositado em outras partes do óvulo. Dependendo do material predominantemente acumulado, o endosperma pode ser oleaginoso (rico em gorduras), córneo (com paredes celulares espessadas, de consistência dura), carnosos (rico em reservas celulósicas, menos compactas), mucilaginoso (com compostos altamente higroscópicos) e amiláceo (constituído basicamente de amido). Neste último caso, o endosperma apresenta uma camada mais externa, formada por células menores, chamada *aleurona*. O endosperma pode ser consumido durante o desenvolvimento do embrião, o que ocorre nas sementes cujo embrião é dotado de cotilédones bem desenvolvidos (como no caso do feijão), que exercem a função nutridora do embrião na germinação. Quando persiste durante a fase de maturação da semente (como no milho), o endosperma é totalmente consumido durante a germinação.

O envoltório (*seed-coat*), que inicia seu desenvolvimento com a fecundação do óvulo, é inteiramente formado a partir de tecido diplóide da planta-mãe. É constituído pelos tegumentos (testa e tégmen), pelo tecido calazal e rafeal e, freqüentemente, pelo nucelo. Numa generalização, os termos *testa* ou *tegumento* têm sido usados para designar o envoltório das sementes como um todo. A transformação da parede do óvulo em envoltório, e o crescimento deste em função das tensões progressivas criadas pela expansão da semente, ocorrem por intermédio de divisões celulares periclinais (crescimento em espessura) e anticlinais (crescimento em superfície), bem como por alongamento celular. O tegumento representa uma via de troca de matéria entre os meios interno e externo, mas ao longo do desenvolvimento pode lignificar-se, suberizar-se ou cutinizar-se, aumentando a resistência às trocas de gases, de água e de solutos entre a semente e o meio.

Etapas do desenvolvimento

Após a fertilização, o desenvolvimento do embrião de uma angiosperma apresenta as fases de *histodiferenciação* ou *embriogênese*; *maturação* e *dessecação* (Fig. 20.1).

A histodiferenciação ou embriogênese é marcada por um intenso processo de divisão e diferenciação celular, formando os tecidos que irão constituir o embrião e o endosperma. Também pode ser chamada de fase de divisão celular. A suspensão da síntese de DNA e da atividade mitótica marcam o fim desta fase e o início da maturação, conforme observado em sementes de tomate.

A fase de maturação é caracterizada primeiramente pela expansão celular e alocação de substâncias, notadamente proteínas, lipídios e/ou carboidratos, para os tecidos de reserva, sejam os cotilédones ou o endosperma, resultando num aumento da matéria seca na semente em desenvolvimento. Por esse motivo, a fase de maturação também é chamada de *fase de armazenamento* ou *de acumulação*. O crescimento do embrião ocorre por meio do alongamento celular, que é resultante da captação de água e acúmulo de reservas. Em geral, o final da fase de maturação, quando há o maior acúmulo de matéria seca nos tecidos da semente, representa o ponto de maturidade fisiológica.

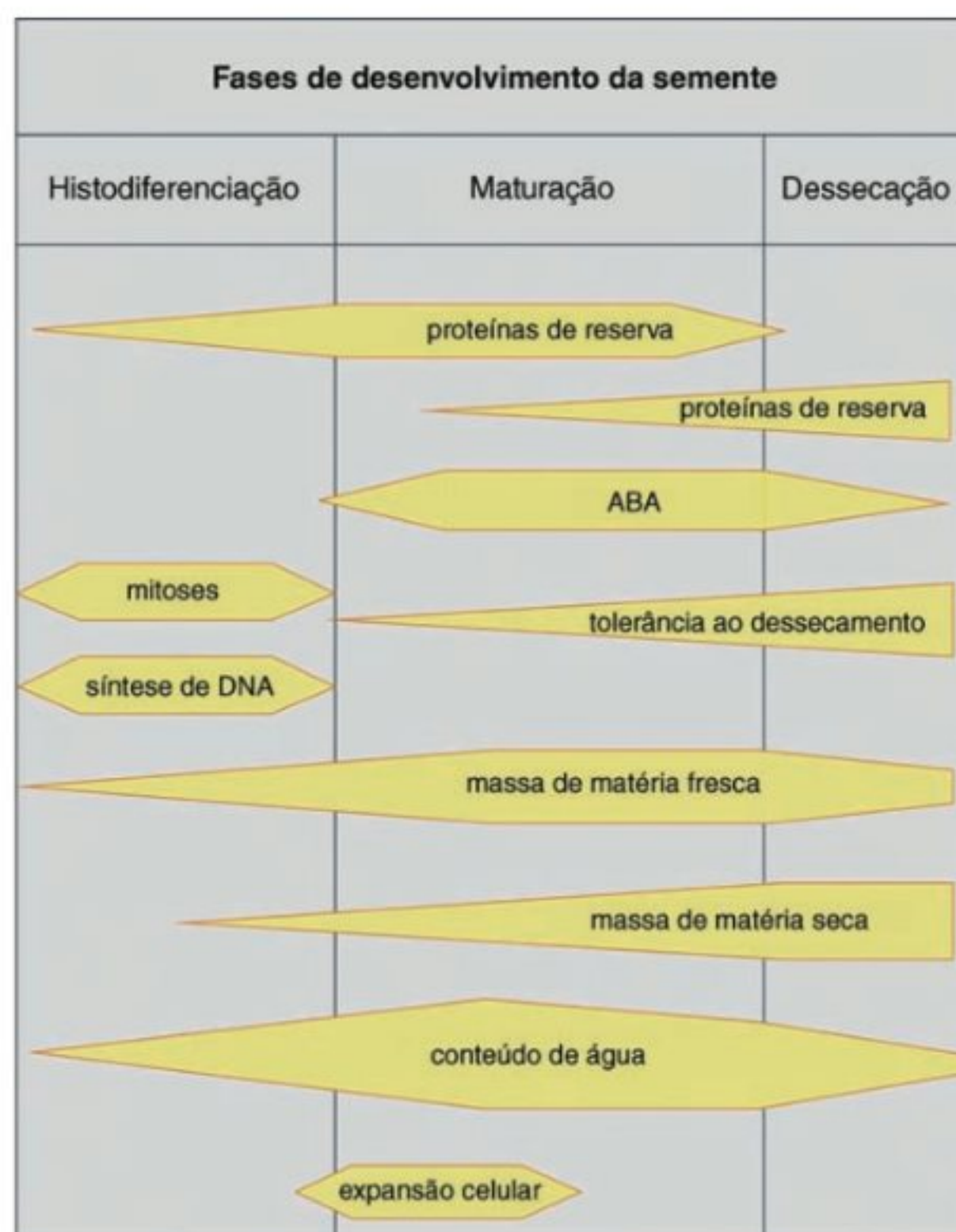
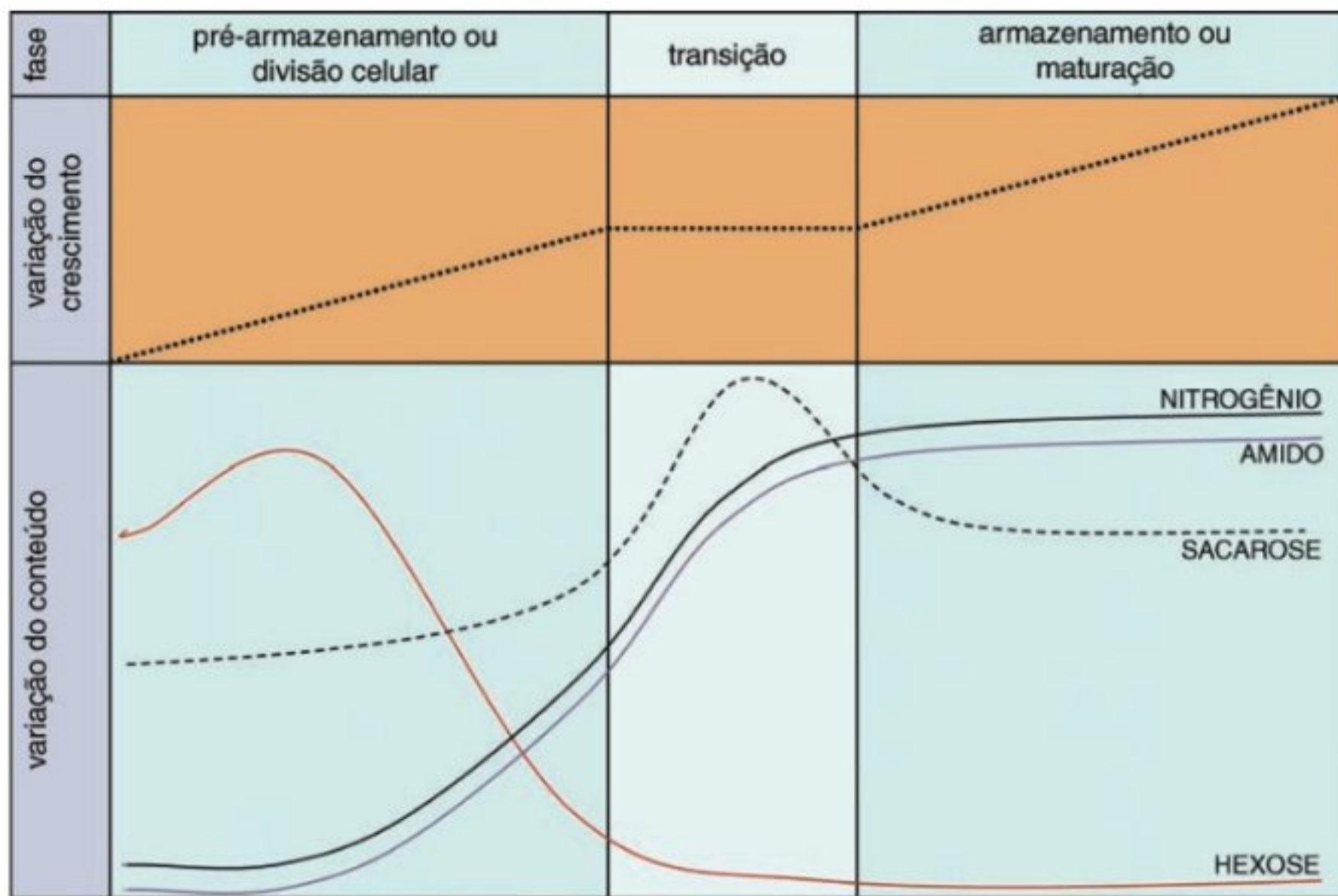


FIGURA 20.1

Evolução de alguns eventos citológicos e bioquímicos observados durante as fases de histodiferenciação (HD), maturação (MAT) e dessecação (DES) das sementes. (Modificado de Kermode, 1995, e Bradford, 1994.)

Estudos realizados com sementes de leguminosas mostram que o crescimento da semente durante as fases de histodiferenciação e maturação não se processa de maneira uniforme, mas é separado por uma fase estacionária ou de *transição* (Fig. 20.2). Na transição, o embrião comuta de tecido meristemático em tecido diferenciado, acumulador de reservas, em decorrência de mudanças na expressão gênica que levam à operacionalização de vias de resposta a açúcar e hormônios. Uma característica da fase de transição é a mudança acentuada da relação entre os conteúdos de hexoses e sacarose no embrião. No início do desenvolvimento (fase de divisão celular) ocorre uma maior atividade da enzima invertase ácida, ao passo que na fase de maturação há uma elevada atividade da sintase da sacarose, de modo que a relação hexoses:sacarose é elevada na fase de divisão e baixa na fase de maturação. Além da inversão na relação hexoses:sacarose, na fase de transição ocorre a indução da expressão de genes associados ao acúmulo de reservas, demonstrada pelo aumento nas taxas de acúmulo de nitrogênio e amido no embrião (Fig. 20.2). Assim, enquanto na fase de divisão os fluxos são dirigidos para a formação de compostos celulares, na maturação os metabólitos

**FIGURA 20.2**

Varição relativa do crescimento e dos níveis de nitrogênio, amido, sacarose e hexose do embrião de sementes de *Vicia fava* em desenvolvimento. (Weber *et al.*, 2005.)

são direcionados para compostos de reserva. Finalmente, considerando-se que a demanda energética na fase de divisão é menor do que na fase de maturação, a quantidade de energia metabólica disponível sob a forma de nucleotídeos de adenina (ATP, ADP e AMP) é baixa na fase de divisão e alta na maturação. Em suma, na fase de transição a comutação do crescimento mitótico para o crescimento por expansão celular é acompanhada de mudanças drásticas no metabolismo e distribuição de metabólitos no embrião. Além disso, em sementes de leguminosas, na fase de transição o embrião torna-se verde e fotossinteticamente ativo, o que assegura um suprimento extra de oxigênio ao embrião num ambiente hipóxico.

Ao final da fase de maturação, há um acentuado aumento na taxa de desidratação e a ruptura das conexões tróficas da semente com a planta, ocorrendo uma forte redução do metabolismo no embrião. Nessa fase, chamada de dessecação, a semente em geral atinge o estágio ótimo para a colheita e beneficiamento, bem como para a dispersão. Na etapa de dessecação ocorre a divisão entre o metabolismo direcionado ao desenvolvimento e aquele direcionado à germinação. Enquanto a via para o desenvolvimento é predominantemente anabólica e marcada pelo acúmulo de energia potencial nos tecidos de reserva da semente, na germinação predominam os processos catabólicos e a mobilização da energia acumulada, retomando-se o crescimento do embrião. A fase de dessecação normalmente é mais acentuada em frutos secos, mas também pode ser observada em frutos carnosos, como ilustram as curvas de variação no teor de água durante o desenvolvimento de sementes de *Phaseolus vulgaris* (feijão) e *Cucumis anguria* (maxixe) (Fig. 20.3).

Desidratação e tolerância à dessecação

Do ponto de vista fisiológico, a fase de dessecação é importante para o embrião tolerar níveis baixos de água no período pós-dispersão e retomar o crescimento durante a germinação. Sementes removidas da planta-mãe e submetidas à secagem antes de completarem seu ciclo de desenvolvimento podem germinar se tiverem atingido a condição de tolerância à dessecação, que é adquirida gradualmente ao longo do desenvolvimento e perdida na fase de germinação. A tolerância à dessecação pode ser definida como a capacidade do sistema vivo de sobreviver à desidratação celular, até concentrações de água da ordem de 0,1 g por grama de tecido (base massa seca) ou menores, por um período relativamente prolongado. No caso da semente, a desidratação pode alcançar algo em torno de 90% do conteúdo de água inicialmente presente nos tecidos.

Algumas proteínas e carboidratos são sintetizados na semente apenas durante as etapas mais tardias do desenvolvimento. Dentre estas proteínas, as denominadas LEA (*Abundantes na Embriogênese Tardia*) podem estar associadas à tolerância do embrião à dessecação, verificando-se uma coincidência entre a aquisição de tolerância ao dessecação durante o desenvolvimento de sementes e a síntese e acúmulo dessas proteínas. Extremamente hidrofílicas e termoestáveis, as proteínas LEA podem atuar como seqüestradores de íons ou como agentes de solvatação de membranas e outras proteínas, protegendo os componentes celulares dos danos decorrentes da falta de água. A síntese dos RNA mensageiros (RNAm) das proteínas LEA ocorre no início do período de dessecação, tendo sua concentração reduzida gradualmente algumas horas após a *embebição* (entrada de água

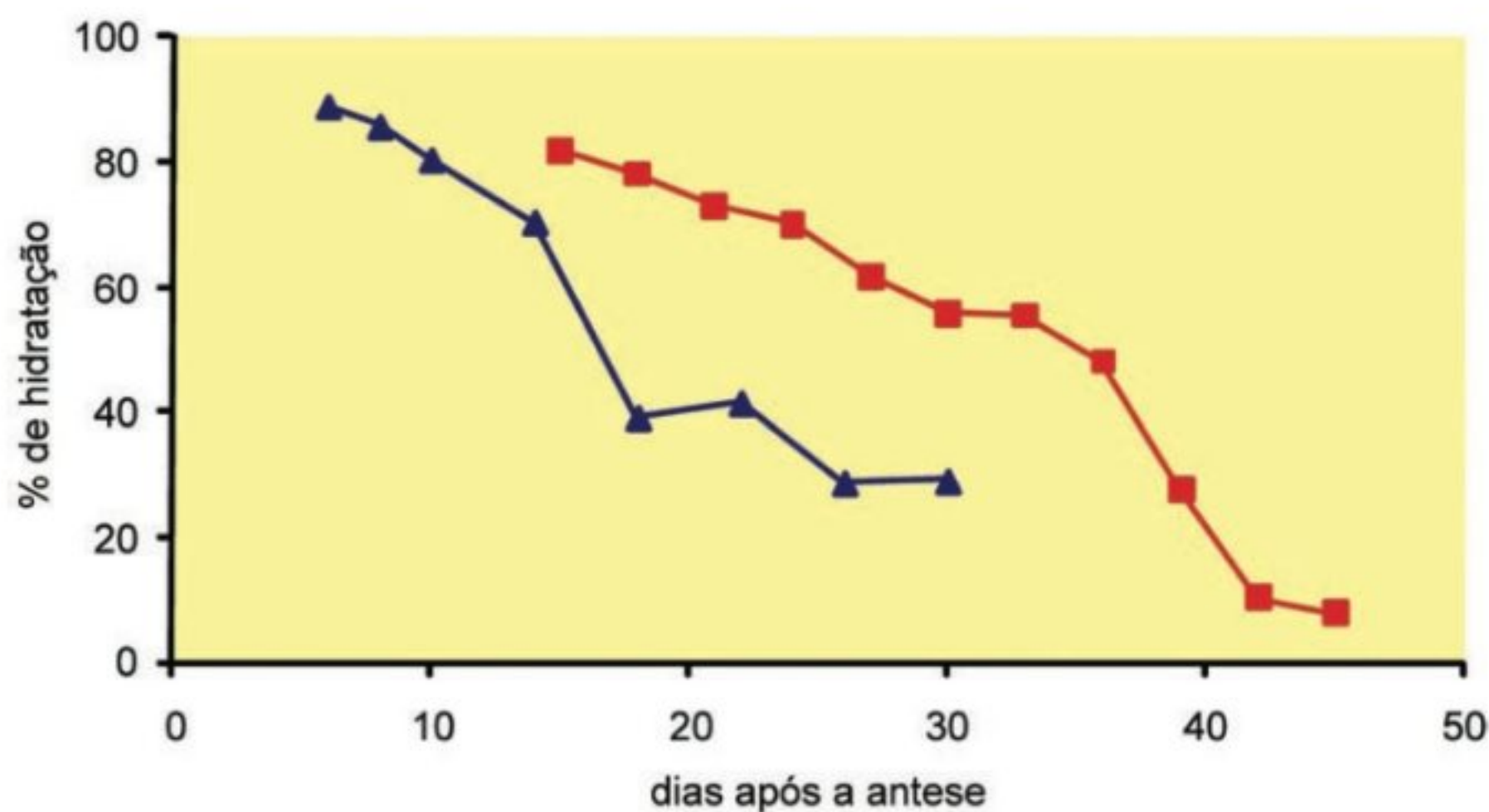


FIGURA 20.3

Varição percentual da porcentagem de água durante o desenvolvimento de sementes de *Cucumis anguria* (maxixe) (▲) e *Phaseolus vulgaris* (feijão) (■). (Cardoso, 1995; Figueiredo e Pereira, 1985.)

na semente seca). Entretanto, em *Arabidopsis thaliana*, observa-se que a quantidade de proteínas LEA pode permanecer constante durante todo o processo de germinação. Além disso, em algodão, determinados grupos de genes *LEA* podem ser expressos por fatores ambientais, particularmente aqueles induzidos por estresse hídrico, sugerindo a participação destas proteínas após a germinação da semente.

Embora a maioria dos genes *LEA* tenha sido identificada em sementes ditas *ortodoxas*, ou seja, tolerantes ao dessecamento, estas proteínas, assim como o hormônio ácido abscísico (ABA), também podem ocorrer em sementes sensíveis ao dessecamento ou *recalcitrantes*. Em geral, as sementes recalcitrantes não exibem a fase de dessecação rápida durante o desenvolvimento na planta-mãe, apresentando um aumento praticamente contínuo da matéria seca. A presença de proteínas *LEA* nestas sementes poderia contribuir para aumentar, ainda que em pequeno grau, sua tolerância à desidratação e ao frio.

A tolerância ao dessecamento envolve, portanto, alterações na expressão gênica em função do estado de hidratação do tecido. A síntese de proteínas *LEA*, bem como de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*), pode ser influenciada pelo ABA conferindo proteção ao embrião contra eventuais danos decorrentes da dessecação. Esse hormônio, quando aplicado exogenamente, restabelece a tolerância à dessecação em mutantes deficientes de ABA.

Além das proteínas, a tolerância à dessecação provavelmente envolve outras substâncias, tais como carboidratos, antioxidantes e radicais livres. Com a desidratação da semente, a sacarose e alguns oligossacarídeos, dentre estes a rafinose e a estaquiose, podem contribuir para a formação do estado vítreo (sólido amorfo) no citoplasma, caracterizado pela alta viscosidade, aumento das forças de coesão intermoleculares, restrição da mobilidade citoplasmática, redução na velocidade das reações químicas e manu-

tenção da compartimentação celular. Acredita-se que a formação e a estabilidade dessas matrizes vítreas intracelulares deva-se à interação entre proteínas *LEA*, sacarose e oligossacarídeos, com os filamentos protéicos atuando como elemento de reforço da matriz amorfa de carboidratos, à semelhança da armadura de ferro no concreto armado. Por outro lado, há evidências em sementes da existência de “ilhas” de maior concentração de água dentro de células desidratadas, localizadas, por exemplo, no interior da mitocôndria e plastídeos. Isso indica um meio intracelular vítreo não-homogêneo, com densidade variável, com bolsões suficientemente fluidos para permitir reações químicas em tecidos desidratados e considerados tolerantes ao dessecamento. Por outro lado, numa condição de ausência completa de água intracelular, a viabilidade da semente fica totalmente comprometida. Qualquer nível de água abaixo de um valor crítico ($<0,08 \text{ g g}^{-1}$), e que comprometa a manutenção da integridade do estado vítreo, acarretará um aumento da produção e mobilidade de radicais livres ou outras espécies tóxicas, com o conseqüente aumento da taxa de reações deletérias causadoras do envelhecimento da semente.

Controle do desenvolvimento

O desenvolvimento da semente é um evento bastante complexo, com múltiplos sistemas de regulação e controle. Dependendo de fatores endógenos e/ou externos, ao final do desenvolvimento tem-se uma semente *não dormente* ou *quiescente*, ou seja, apta a germinar sob condições ambientais favoráveis, ou uma semente *dormente*, que necessitará de estímulos ambientais específicos para adquirir a capacidade de germinação (ver item *Dormência*).

A existência do período de dessecação entre as fases de desenvolvimento e a germinação sugere que a desidratação influencia a comutação do metabolismo celular de uma fase para outra.

Existem, entretanto, situações em que a perda de água não constitui um pré-requisito para o estabelecimento do metabolismo germinativo, como é o caso de embriões imaturos de várias espécies, que adquirem a capacidade de germinar quando removidos da semente em desenvolvimento e colocados em água ou meio de cultura. Isto sugere que a competência do embrião para germinar é adquirida já nas primeiras etapas do desenvolvimento, em geral após a fase de histodiferenciação, e que fatores maternos e/ou da própria semente controlam o desenvolvimento do embrião e impedem a germinação da semente na planta-mãe. Esta germinação precoce, conhecida como *viviparidade*, ocorre quando não há restrição da germinação, permitindo o crescimento ininterrupto do embrião com a semente ainda ligada à planta. Por outro lado, quando a ação dos fatores restritivos da germinação perdura após a semente ter atingido sua completa maturidade, teremos uma semente dormente.

Os envoltórios parecem desempenhar um importante papel no controle do desenvolvimento de algumas sementes na fase de divisão celular. Envoltórios jovens de *Vicia faba* e ervilha acumulam amido e proteínas, antes de o embrião passar a funcionar como órgão de armazenamento. Qualquer mutação que afete essa atividade armazenadora dos envoltórios irá impedir o crescimento do embrião. Essa propriedade dos envoltórios parece estar relacionada à atividade de enzimas, como invertases (hidrólise da sacarose) e sintase da sacarose, e hormônios, especialmente o ABA. Em *Arabidopsis* e tabaco, o ABA sintetizado nos tegumentos é translocado para o embrião, evitando o abortamento e promovendo seu crescimento por intermédio da regulação da importação de metabólitos. As invertases parecem desempenhar um importante papel no controle, pelo tecido materno, do suprimento de nutrientes ao embrião. Uma hipótese postula que o aumento da atividade de invertases ligadas à parede do envoltório eleva a disponibilidade de hexoses para o embrião, estimulando seu crescimento por divisão celular. O ABA controlaria a maturação pela indução de inibidores da invertase, que decresceriam os níveis de hexose, cessando as divisões celulares e iniciando a etapa de diferenciação. Além disso, invertases solúveis (INVvc) parecem desempenhar um importante papel no decréscimo na atividade de dreno da semente em desenvolvimento. Em situações de estresse, com redução de atividade na fonte (ver Cap. 5, Fotossíntese), uma maior produção de inibidores de INVvc reduzem o consumo de sacarose e, conseqüentemente, a demanda do dreno por esse metabólito, tendo como resultado a redução no tamanho e/ou número de sementes. A própria sacarose, cuja concentração aumenta sensivelmente na fase de transição, parece induzir a expressão de genes associados ao armazenamento e a expansão celular, características da fase de maturação. Nessa fase, o controle do metabolismo deixa de ser exercido pela invertase — que consome ATP e eleva a concentração de hexose — e passa para a sintase da sacarose, que eleva o teor do açúcar e economiza ATP.

O ABA desempenha um papel fundamental mantendo o metabolismo do embrião no “modo desenvolvimento” até que o embrião esteja apto para uma germinação bem-sucedida da semente após a dispersão. Esse hormônio, cujos níveis na semente

em geral são relativamente baixos na fase de histodiferenciação e elevados na maturação, atua como inibidor da germinação na etapa de expansão celular, além de promover um aumento da síntese de proteínas de reserva. Assim, o ABA teria uma função dupla durante o desenvolvimento, induzindo processos biossintéticos e, ao mesmo tempo, mantendo o embrião em estágio pré-germinativo, com a inibição da maquinaria responsável pela hidrólise das reservas. Durante a fase de dessecação, em muitos casos, ocorre um decréscimo acentuado na concentração de ABA endógeno, atingindo teores muito baixos na semente madura, assim como há uma diminuição na capacidade do embrião em responder a este hormônio. Os níveis de ABA durante o desenvolvimento e/ou a sensibilidade dos tecidos ao hormônio podem determinar a condição de quiescência e de dormência primária ao final dessa fase; entretanto, em muitos casos, não há uma relação bem estabelecida entre a indução da dormência e os níveis endógenos de ABA. Se na fase de desenvolvimento não há uma discriminação entre sementes dormentes e não dormentes em relação ao conteúdo de ABA, durante a embebição (ver item *Embebição*) sementes com dormência fisiológica (ver item *Dormência*) continuam a sintetizar ABA, ao contrário de sementes não dormentes.

Em geral, as evidências para o envolvimento do ABA no desenvolvimento da semente baseiam-se na dosagem e/ou na aplicação do hormônio e, mais recentemente, no uso de mutantes deficientes ou com baixa resposta (sensibilidade) ao ABA. A aplicação de ABA pode inibir a germinação precoce de embriões imaturos de milho cultivados em meio de cultura, enquanto os embriões deficientes para este hormônio apresentam germinação precoce na planta-mãe (*viviparidade*). Mutantes de *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana plumbaginifolia* (fuminho) deficientes em ABA, por sua vez, são incapazes de entrar em dormência. Mutantes insensíveis ao ABA apresentam defeitos nas vias de transdução de sinais do ABA e são caracterizados por apresentarem dormência reduzida e expressão de genes característicos das fases de germinação/pós-germinação.

Além do ABA, o potencial osmótico relativamente baixo (alta osmolaridade) dos tecidos adjacentes ao embrião, impedindo um suprimento adequado de água ao mesmo, também é um fator inibitório da germinação durante o desenvolvimento, conforme observado em frutos carnosos como o tomate. A alta osmolaridade provoca um estresse hídrico que, por sua vez, pode causar um aumento na concentração de ABA no embrião, embora isso nem sempre se verifique. A presença de outras substâncias inibidoras — provavelmente alcalóides — no fruto, como as detectadas em algumas espécies de *Psychotria* (Rubiaceae), também pode restringir a germinação. Na fase de desidratação rápida, ao final do desenvolvimento da semente, os baixos potenciais de água e/ou a presença de inibidores no meio extra-seminal podem cumprir a função de inibir a germinação precoce.

A viviparidade fornece boas evidências sobre o envolvimento do ABA no controle da germinação da semente em desenvolvimento. Neste processo não existe uma linha divisória nítida entre as fases de desenvolvimento e a germinação, uma vez que

o crescimento do embrião é praticamente contínuo, em geral com pouca ou nenhuma desidratação. Estudos com mutantes de milho deficientes e insensíveis ao ABA, e com inibidores da biossíntese de giberelinas (AG), demonstram que AG são reguladores positivos da viviparidade, sendo que a inibição da biossíntese de AG simula o efeito da aplicação de ABA, suprimindo a viviparidade. Verifica-se também que o controle desse fenômeno parece estar relacionado à razão AG:ABA, e não à quantidade absoluta do hormônio, sugerindo uma ação antagônica desses hormônios durante o desenvolvimento do grão de milho. Alguns experimentos sugerem que embriões de *Rhizophora mangle* (planta de mangue) são relativamente insensíveis ao ABA, necessitando de concentrações relativamente elevadas do hormônio para inibir seu crescimento. Outras evidências do envolvimento do ABA na viviparidade vêm do fato de que mutantes de milho vivíparos contêm menos ABA ou são menos sensíveis ao hormônio do que os tipos selvagens, além de esse hormônio inibir a germinação precoce de embriões imaturos em meio de cultura.

Em muitas outras espécies — particularmente arbóreas tropicais — é possível que outras substâncias (especialmente compostos do metabolismo secundário) atuem durante a fase de desenvolvimento da semente. Em *Myroxylon peruiferum* (cabriúva), por exemplo, detectou-se a presença de cumarina no fruto e na semente, sendo que essa substância pode estar envolvida na supressão da germinação precoce.

O PROCESSO DE GERMINAÇÃO

Terminologia e critérios

Em geral, ao final do desenvolvimento da semente na planta-mãe, os processos de troca energética entre a semente e o meio são reduzidos a níveis mínimos e praticamente imperceptíveis, estando a semente pronta para ser liberada no ambiente. A germinação representa a retomada do crescimento do embrião, que sofreu uma interrupção ao final da fase de maturação na planta-mãe. A germinação inicia-se com a entrada de água na semente (embebição) que irá ativar o metabolismo, culminando com o crescimento do eixo embrionário.

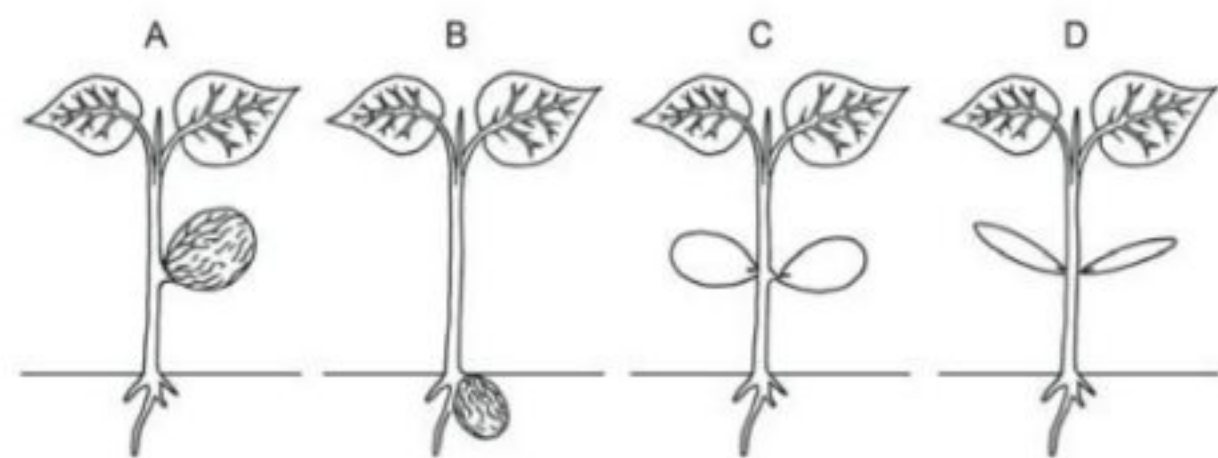


FIGURA 20.4

Esquema mostrando os principais tipos de plântulas, com base em características do cotilédone e hipocótilo. A. Criptocotiledonar, epígeo e carnoso; B. Criptocotiledonar, hipógeo e carnoso; C. Fanerocotiledonar, epígeo e carnoso; D. Fanerocotiledonar, epígeo e foliáceo.

De acordo com o critério fisiológico, a germinação é completa quando uma parte do embrião, em geral a radícula, penetra e trespassa os tecidos que o envolvem. Além desse, existem outros critérios de germinação, como a curvatura gravitrópica da radícula ou a emergência da plântula através da superfície do solo (critério agrônomo ou tecnológico).

Tipos de germinação

Do ponto de vista fisiológico, a germinação se encerra com a protrusão radicular, mas em estudos de ecofisiologia os atributos da plântula também devem ser levados em consideração. A plântula é o resultado da germinação, mas até quando um indivíduo jovem pode ser considerado uma plântula ainda suscita discussões. Um critério morfológico estabelece o uso do termo plântula até o surgimento do 1º eófilo (primeira folha após os cotilédones), quando então a planta entraria na fase juvenil. Outro critério, este de natureza fisiológica, considera plântula enquanto essa depender predominantemente das próprias reservas seminais. De qualquer modo, no estudo de plântulas é preciso que os critérios usados estejam previamente definidos pelo pesquisador.

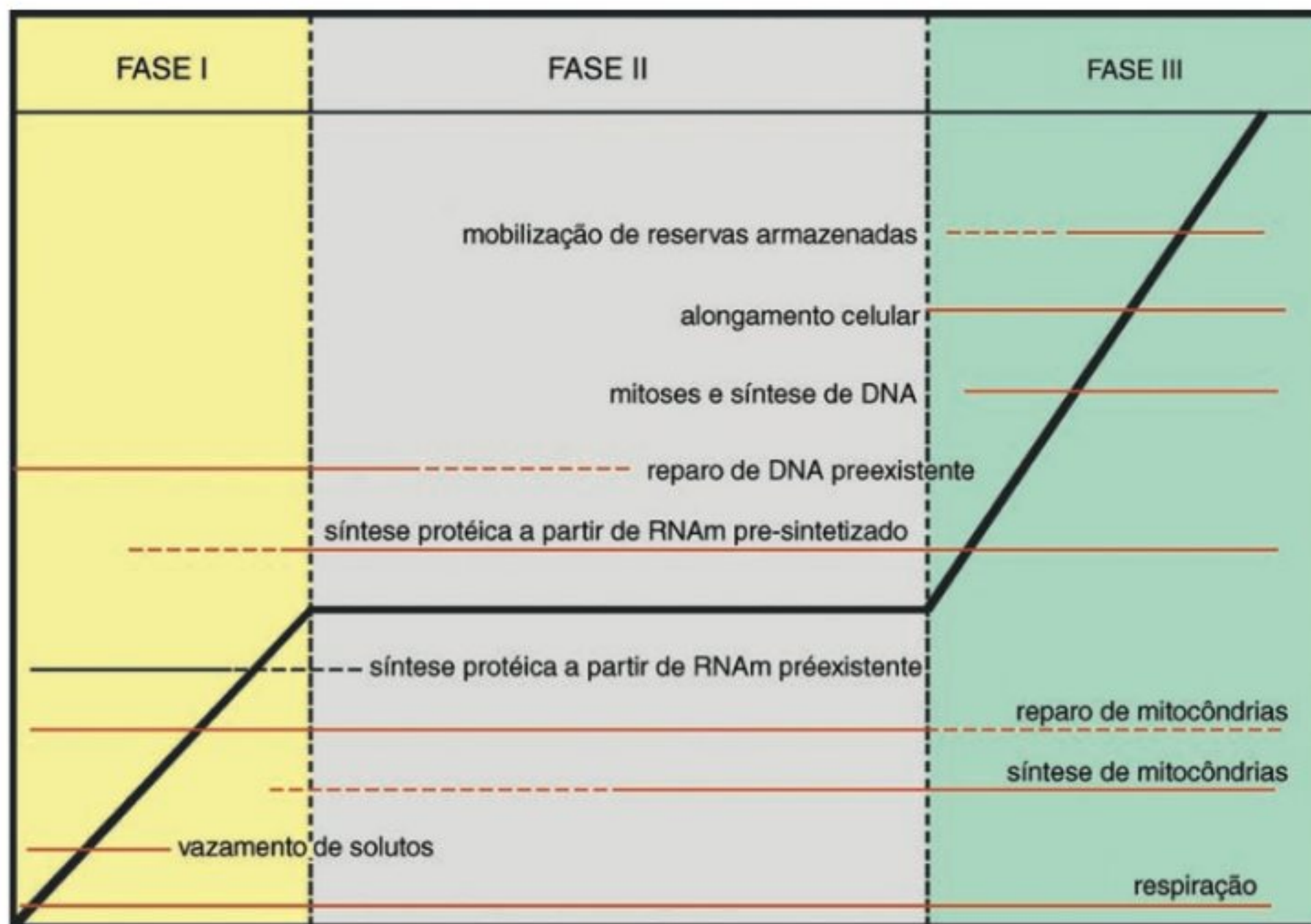
A classificação das plântulas em geral leva em consideração o comprimento do hipocótilo (*epígeas* ou *hipógeas*), exposição dos cotilédones (*criptocotiledonar* e *fanerocotiledonar*) e a natureza dos cotilédones (*carnosos* ou *foliáceos*). Na germinação *epígea* o crescimento do hipocótilo faz com que os cotilédones se elevem acima do solo (exemplo, feijão), enquanto na *hipógea* o hipocótilo é curto, de modo que os cotilédones permanecem no solo (exemplo, ervilha). Uma plântula é *criptocotiledonar* quando seus cotilédones permanecem envolvidos pelos tegumentos, como em *Viola bicuhyba*, e *fanerocotiledonar* quando estão livres, como em *Trema micrantha* (candiúva). Finalmente, cotilédones carnosos, exemplificados em *Hymenaea courbaril* (jatobá), apresentam função principalmente armazenadora de energia, enquanto cotilédones foliáceos, como em *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão), são predominantemente fotossintéticos, fazendo o papel de verdadeiras folhas. A Fig. 20.4 apresenta um esquema de tipos básicos de plântulas.

Etapas da germinação

EMBEBIÇÃO

A protrusão radicular depende do crescimento do embrião desencadeado pela absorção de água pelos tecidos (*embebição*). A embebição das sementes é um processo físico, relacionado basicamente às propriedades coloidais dos seus constituintes e às diferenças de potencial hídrico (Ψ) entre a semente e o meio externo. No início da embebição o componente matricial da semente é o principal responsável pelo movimento da água, mas com o aumento da disponibilidade de água livre e do metabolismo na semente, o componente osmótico aumenta sua participação no processo (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

Os valores de Ψ numa semente quiescente são muito variáveis, situando-se entre -50 MPa e -400 MPa, produzindo um

**FIGURA 20.5**

Padrão de variação do conteúdo de água (linha escura) e principais eventos fisiológicos e metabólicos (linhas vermelhas) associados às diferentes fases da captação de água pela semente durante a germinação. (Modificado de Bewley, 1997.)

gradiente de água relativamente elevado entre a semente e o solo com, por exemplo, -2 MPa (próximo ao ponto de murcha permanente de diversas culturas, como a cana-de-açúcar). Entretanto, para que ocorra a embebição é necessário que os tecidos que envolvem o embrião sejam permeáveis à água. Considerando as estruturas da semente e do fruto, existem sementes com envoltórios impermeáveis (impedem a entrada de água no interior da semente), parcialmente permeáveis (reduzem a velocidade de embebição) ou totalmente permeáveis (não afetam a velocidade de embebição). Em plena disponibilidade de água, a embebição apresenta em muitos casos uma curva trifásica (Fig. 20.5): na fase I, o teor de água na semente aumenta rapidamente, seguido de uma estabilização na fase II, mantida até o início da germinação visível, quando na fase III há outro aumento no teor de água, em decorrência do crescimento do embrião.

A rápida entrada de água na fase I causa alterações na permeabilidade das membranas devidas à mudança do estado gel (na semente quiescente) para o estado líquido-cristalino, característico das membranas normalmente hidratadas (Fig. 20.6). Estas alterações promovem o vazamento de metabólitos de baixo peso molecular e outros solutos para o meio, sendo esta perda reduzida com o retorno à configuração líquido-cristalina. A pré-umidificação, bem como o aquecimento da semente não hidratada, podem reduzir eventuais danos decorrentes da embebição. Alguns carboidratos (especialmente a sacarose) e fosfolipídios (como o N-acetilfosfatidiletanolamina), cuja concentração aumenta durante

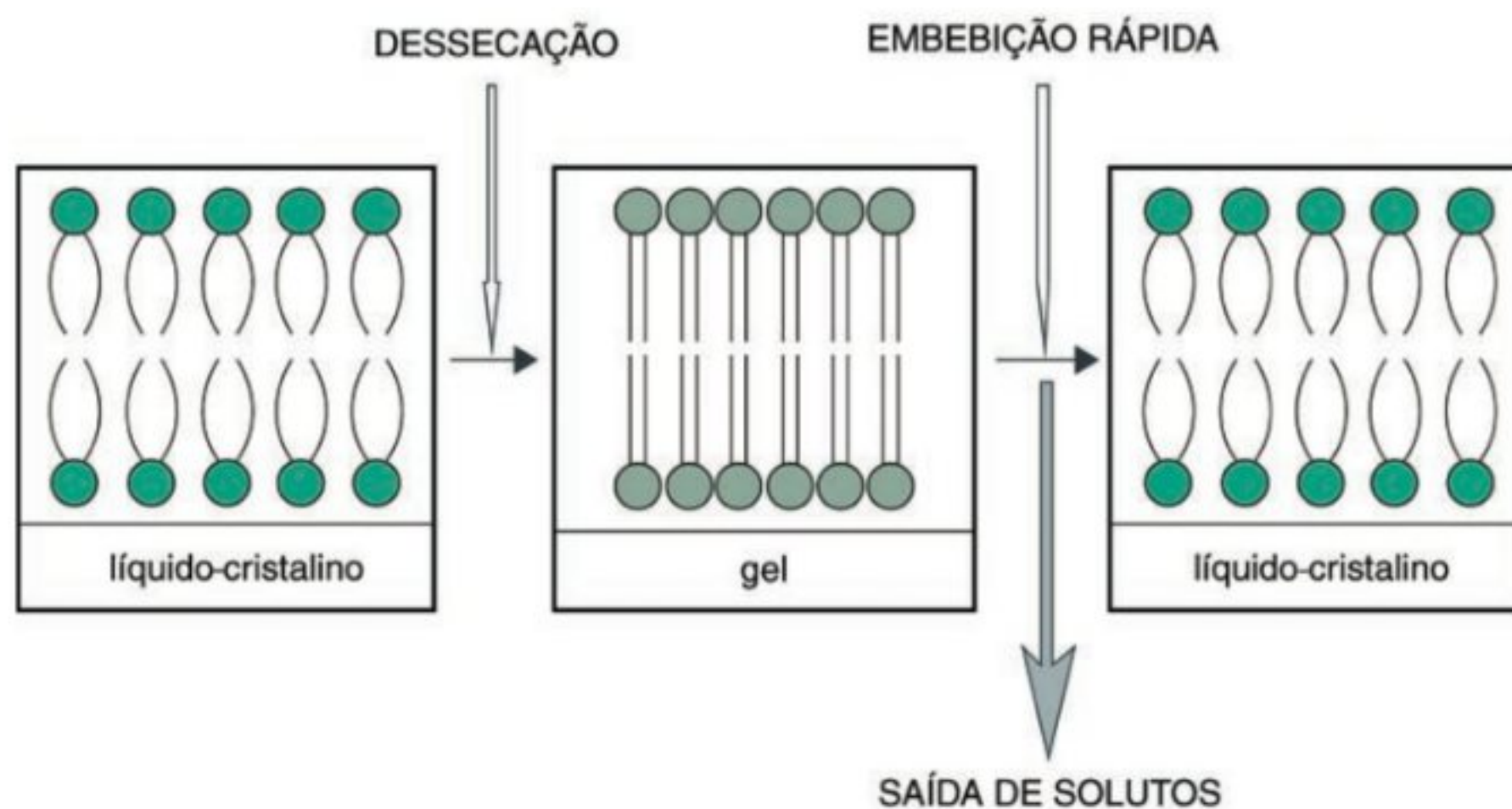
a embebição de sementes de algodão, podem estar envolvidos na estabilização e no reparo das membranas.

A fase II, ou fase estacionária, caracteriza-se pela estabilização no conteúdo de água e ativação dos processos metabólicos necessários para o início do crescimento do embrião. A duração dessa fase e a quantidade de água na semente dependem do potencial de água no meio, da temperatura e da presença ou não de dormência. Sementes dormentes podem conservar-se na fase II durante meses ou anos, até a quebra da dormência. Nessa fase o embrião ainda é capaz de suportar a desidratação, característica perdida na fase III, que marca o início do crescimento do eixo embrionário e a retomada da absorção de água.

As diferentes partes das sementes podem exibir padrões e níveis de embebição distintos. Na soja, por exemplo, o eixo embrionário apresenta maior taxa de hidratação quando comparado aos cotilédones e ao tegumento, os quais não absorvem mais água, uma vez atingida a fase estacionária.

EXTENSÃO RADICULAR

As complexas transformações metabólicas iniciadas com a embebição são finalizadas com o crescimento da radícula através das estruturas envoltórias da semente, marcando, em termos fisiológicos, o final da germinação propriamente dita e o início do crescimento da plântula. Dependendo da espécie, pode haver um período considerável de crescimento intra-seminal, antes

**FIGURA 20.6**

Mudanças de fase das membranas durante a dessecação e a embebição da semente. (Modificado de Oliver *et al.*, 1998.)

de a radícula (ou outro órgão, como o hipocótilo ou coleóptilo) ultrapassar a barreira do tegumento. Essa expansão da radícula pode, em poucas sementes, envolver a divisão celular, embora na grande maioria as mitoses ocorram predominantemente após a protrusão ou germinação visível.

Três hipóteses foram elaboradas para explicar o início do crescimento da radícula, que poderia ser resultante de: a) uma redução no potencial osmótico (Ψ) das células, devido ao acúmulo de solutos, possivelmente por hidrólise de polímeros; b) um aumento na extensibilidade das paredes celulares, por intermédio do rompimento e reconstituição das ligações entre moléculas de xiloglucano e microfibrilas de celulose; e c) o enfraquecimento, por ação enzimática, dos tecidos que recobrem o ápice radicular.

A terceira possibilidade tem recebido maior atenção dos pesquisadores, pois a resistência exercida pelos envoltórios aparenta ser o principal fator limitante ao início do crescimento do eixo embrionário. Para que a protrusão radicular ocorra em sementes nas quais o endosperma e/ou tegumento representem fortes barreiras mecânicas, estas estruturas devem ser modificadas. Uma maior atividade de enzimas como a endo- β -mananase, expansinas, β -1,3-glucanase, poligalacturonase, quitinase e arabinosidase pode estar envolvida na hidrólise parcial das paredes celulares do endosperma de sementes de tomate, durante a germinação. Nessa espécie, a endo- β -mananase e expansinas são expressas especificamente na região do endosperma que cobre o ápice radicular. No caso da poligalacturonase e quitinase, a transcrição ocorre tanto no endosperma quanto na extremidade da radícula (Tabela 20.1). Entretanto, nem sempre é demonstrada uma correlação entre a atividade da enzima e a indução do crescimento da radícula.

Metabolismo da semente germinante

Durante a embebição ocorre a reativação do metabolismo, por intermédio de substâncias e estruturas preservadas após a fase de dessecação.

O aumento na atividade respiratória pode ser detectado poucos minutos após o início da embebição, e, muitas vezes, o consumo de oxigênio assemelha-se à entrada de água, exibindo um padrão trifásico. Este padrão de consumo de oxigênio apresenta uma fase de aumento rápido, com duração variável dependendo da semente; uma fase estacionária, com aumento lento ou consumo de oxigênio estabilizado (algumas sementes, dentre estas a cevada, a mamona e o arroz, não apresentam essa fase), e uma terceira fase de novo aumento na taxa respiratória, associado à protrusão radicular. Pode ainda ser observada uma 4ª fase, em plântulas mantidas no escuro, caracterizada pela redução na respiração, em consequência da exaustão das reservas cotiledonares.

Durante a fase I da embebição, ocorre a reativação das enzimas mitocondriais do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, assim como a reconstituição de cetoácidos (α KG e piruvato) intermediários das vias respiratórias (ver Cap. 7, Respiração). Nessa fase, a disponibilidade de açúcares, principalmente sacarose, rafinose e estaquiase, mantém a respiração. A mobilização das principais substâncias de reserva — amido, proteínas e lipídios — ocorre após o início do crescimento do embrião, na fase III da embebição.

As reações da fase I são catalisadas por enzimas preservadas na semente e ativadas pela hidratação. O esgotamento de substrato, associado à substituição do sistema mitocondrial originalmente presente na semente seca por outro, estrutural e funcionalmente mais eficiente, poderiam ser os responsáveis pela fase estacionária. O aumento da resistência à difusão de oxigênio através dos envoltórios, como observado em *Brachiaria decumbens* (capim-braquiária) e *B. brizantha* (braquiário), também determina a estabilização no consumo desse gás, além de acelerar a produção de etanol, afetando negativamente a qualidade fisiológica da semente. Essa hipótese é corroborada por experimentos nos quais a remoção do tegumento causa a redução da fase estacionária.

A curva de ATP durante a germinação também exibe um aspecto trifásico: um rápido aumento durante as primeiras horas de embebição, provavelmente por síntese *de novo* via fosforilação oxidativa; uma fase estacionária, com produção e consumo equivalentes; e um novo aumento no conteúdo de ATP, associado ao crescimento do embrião.

Apesar de a fosforilação oxidativa ser considerada a principal fonte de ATP no início do processo germinativo, no decorrer da embebição o embrião é exposto a uma condição de anaerobiose parcial. Principalmente em sementes grandes, a maior resistência à difusão de oxigênio no meio líquido dificulta a penetração do gás nos tecidos mais internos, ocorrendo a ativação da fermentação alcoólica e a produção de quocientes respiratórios (CO_2/O_2) maiores que 1. À medida que as mitocôndrias se tornam mais ativas e o embrião cresce, há maior disponibilidade de oxigênio e quocientes respiratórios menores são observados, ocorrendo um aumento no suprimento de ATP, pela ativação do ciclo de Krebs e da via oxidase do citocromo.

A síntese protéica inicia-se logo após a hidratação, a partir de substratos (enzimas, RNAt, ribossomos, RNAm etc.) presentes na semente madura e reativados com a embebição. Nessa fase, existe uma grande quantidade de RNAm conservado, porém apenas parte dela será transcrita e traduzida em proteínas. Por outro lado, análises realizadas em *Arabidopsis* revelam muitos genes que são altamente expressados nas sementes, mas cuja função ainda é desconhecida. A grande maioria das proteínas isoladas de sementes maduras de *Arabidopsis* não varia significativamente durante a germinação. Das proteínas identificadas nesse grupo, a maioria é representada por globulinas e enzimas envolvidas na mobilização de lipídios de reserva. Nessas sementes, uma fração de cerca de 3% das proteínas detectadas varia quantitativamente durante a fase de embebição, sendo representada por proteínas inicialmente envolvidas na mobilização de reservas protéicas e lipídicas e na retomada do ciclo celular. Outros 3% das proteínas detectadas variaram unicamente durante a fase de protrusão radicular, incluindo-se aí a mirosinase (catalisa a hidrólise de glicosinolatos), a sintetase do Ado-Met (catalisa a síntese de S-adenosil-metionina, um precursor do hormônio etileno) e proteínas LEA. Em sementes de *Arabidopsis* observam-se também proteínas, dentre elas a actina (componente do citoesqueleto), cuja quantidade aumenta com a embebição e decresce com o dessecação, e proteínas, como a desidrogenase do GAP (gliceraldeído-3-fosfato), cuja concentração aumenta com o dessecação e decresce com a embebição. O papel de muitas dessas proteínas na germinação ainda não está esclarecido, além do que nenhum transcrito específico ou exclusivo da germinação *per se* foi identificado até o momento, apesar de novas moléculas de RNAm serem continuamente transcritas à medida que a germinação prossegue.

Por sua vez, a síntese de DNA ocorre apenas na fase de crescimento do eixo embrionário, quando se iniciam as divisões mitóticas. O aumento no conteúdo de DNA, após o início da embebição, deve-se provavelmente ao reparo e reidratação de moléculas preexistentes, bem como à síntese de DNA mitocondrial.

Controle da germinação

Pesquisas realizadas em plantas modelo, como *Arabidopsis thaliana*, tomate e tabaco, mostram que o controle da germinação ocorre por meio de interações entre o embrião e o tecido que o envolve (endosperma e tegumento). Esse tecido de cobertura representa uma resistência ao crescimento do embrião, podendo ser constituído de células vivas (como no caso do endosperma) ou mortas (como nas camadas mais externas do tegumento). No caso do tabaco, por exemplo, a germinação requer a hidrólise enzimática do endosperma, não só para a mobilização de energia ao embrião, como também para o enfraquecimento do tecido (endosperma) que envolve o ápice da radícula. Algumas enzimas envolvidas nesse processo são β -1,3-glucanase, endo- β -mananase e expansinas, as quais podem ser liberadas pelo próprio endosperma e/ou pela radícula. Em tomate, sementes dormentes não são capazes de produzir enzimas que degradam a parede celular.

Em algumas sementes, como *Nicotiana* e *Arabidopsis*, a ruptura da testa e do endosperma são eventos distintos e temporalmente separados. Enquanto o primeiro é consequência do intumescimento da semente decorrente da embebição (mais especificamente, de uma entrada extra de água ao final da fase 2), o segundo decorre da degradação enzimática do endosperma micropilar (parte do endosperma que cobre o ápice da radícula), gerando um "buraco" no tecido, através do qual a radícula emerge (Fig. 20.8).

Essa interação entre o eixo embrionário e os tecidos de reserva envolve hormônios vegetais, sendo a indução da síntese de α -amilase pelo ácido giberélico (AG_3) no endosperma de cevada um exemplo desse mecanismo. Através do uso de linhagens mutantes, assim como da aplicação de hormônios ou seus inibidores, a maioria dos estudos sobre o papel dos hormônios no controle da germinação concentra-se nas AG, no ABA e no etileno.

As giberelinas estimulam a germinação de sementes não dormentes, agindo também na liberação da dormência. A presença de inibidores da biossíntese de giberelinas impede a germinação de várias espécies, assim como este processo ocorre em mutantes deficientes nesse hormônio apenas quando há aplicação de AG ou quando o embrião é isolado do restante da semente. As giberelinas promovem a germinação atuando como hormônios mediadores entre fatores ambientais, como luz e temperatura, e fatores internos restritivos da germinação, como o endosperma. São propostos dois mecanismos para explicar o papel das giberelinas no controle da germinação: a) indução de genes que codificam enzimas que reduzem a resistência mecânica dos envoltórios ao crescimento do embrião e mobilizam nutrientes para o embrião e b) efeito direto sobre o potencial de crescimento do embrião, mais propriamente a capacidade da célula de gerar um potencial de pressão intracelular suficiente para vencer a resistência da parede e se expandir. Em sementes de *Arabidopsis*, a biossíntese de giberelinas na radícula e a presença de genes capazes de responder a elas em tecidos não produtores desse hormônio sugerem que as giberelinas embrionárias são liberadas no interior da semente e disparam as reações que levam ao enfraquecimento dos tecidos adjacentes ao embrião. Por outro lado, sementes cuja

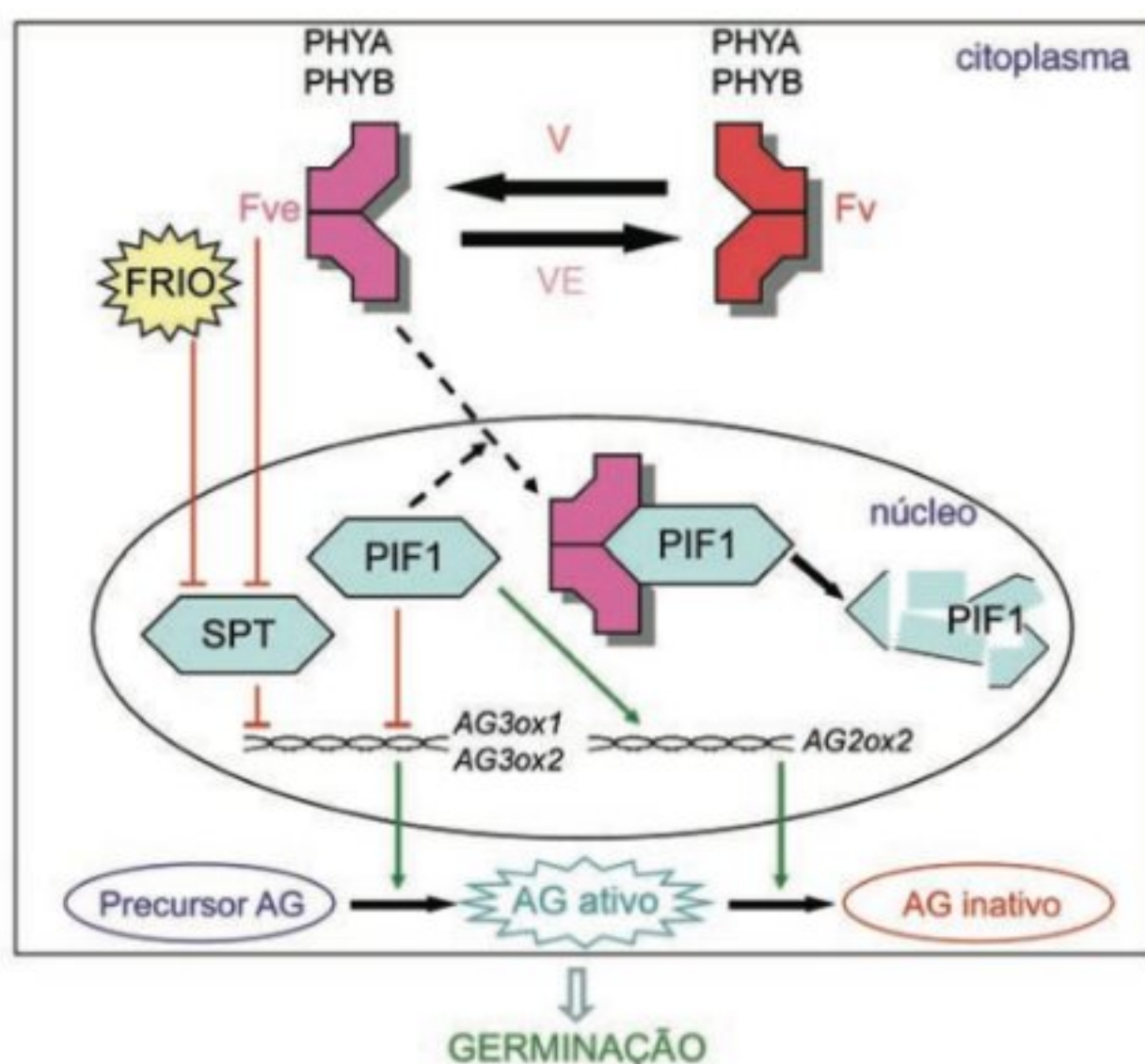


FIGURA 20.7

Modelo de controle da germinação de sementes de *Arabidopsis* pela luz e temperatura baixa. Luzes vermelha (V) e vermelha extrema (VE) são absorvidas, respectivamente, pelas formas Fv e Fve dos fitocromos A e B (PHYA e PHYB). No núcleo, o Fve irá provocar um aumento do nível de giberelina ativa (AG) por intermédio da repressão ou degradação dos fatores de transcrição SPATULA (SPT) e PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 1 (PIF1). SPT e PIF1 agem como repressores de genes (*GA3ox1* e *GA3ox2*) da biossíntese de GA. PIF1 age também na ativação de um gene (*GA2ox2*) do catabolismo de GA. O frio também atua na repressão de SPT.

germinação não sofre interferência por parte das estruturas que envolvem o embrião, como é o caso da soja, não dependem da síntese de AG para germinar.

Giberelinas também atuam na mediação do efeito da luz na germinação. A luz vermelha induz a biossíntese de AG₁ e AG₄ em sementes germinantes de alface e *Arabidopsis*, sendo que esse controle se dá por intermédio do fitocromo. A luz também pode agir reprimindo a síntese de uma enzima (oxidase do AG 2) que degrada a AG, além de aumentar a atividade de giberelinas bioativas (Fig. 20.7). A exposição de sementes hidratadas à temperatura de 4°C (estratificação) resultou, na radícula e na camada de aleurona, na expressão de gene que codifica para uma oxidase da AG (*GA3ox1*) que leva à síntese de AG ativa. Desse modo, a luz e a temperatura modulam o padrão espacial de expressão de genes da biossíntese de AG.

O ABA e as giberelinas atuam de modo inverso no controle da síntese das enzimas envolvidas na degradação de paredes celulares do endosperma: enquanto o primeiro hormônio inibe ou não causa efeito sobre a expressão dos genes, o segundo promove a expressão gênica (Tabela 20.1) (ver Caps. 11, Giberelinas, e 12, Ácido Abscísico). Experimentos realizados com sementes de tomate e café, cuja germinação é inibida pelo ABA, mostram que o efeito do ABA dá-se por intermédio da inibição de endo-β-mananases, enzimas envolvidas na hidrólise de galactomananos (carboidratos de reserva presentes nas paredes celulares do endosperma). Em café (Silva *et al.*, 2004), o controle que o ABA exerce sobre a germinação também parece envolver indiretamente a inibição do potencial de crescimento do embrião.

Sementes não dormentes incubadas em solução de ABA têm a germinação inibida, ou seja, o ABA inibe a fase 3 da embebição, bem como a ruptura do endosperma e o crescimento do embrião

TABELA 20.1

Ação de giberelinas (AG) e ácido abscísico (ABA) na expressão de genes detectados antes da protrusão da radícula, em sementes de tomate embebidas. É também apresentado o tecido no qual o gene é expresso, sendo o endosperma apical a região do endosperma que recobre o ápice radicular (Modificado de Bradford *et al.*, 2000.)

Enzima codificada	Tecido da semente onde ocorre a expressão	ABA	AG
Endo-β-mananase	Endosperma apical, endosperma lateral, embrião	Sem efeito	Promove
Celulase	Endosperma, ápice radicular	Sem efeito	Promove
Poligalacturonase	Endosperma apical, ápice radicular	Sem efeito	—
Arabinosidade	Endosperma apical, endosperma lateral	Sem efeito	Promove
β-1,3-glucanase	Endosperma apical	Inibe	Promove
Expansina	Endosperma apical	Sem efeito	Promove
Quitinase	Endosperma apical, ápice radicular	Sem efeito	Promove
H ⁺ -ATPase vacuolar	Endosperma apical, ápice radicular	Inibe	Promove

após a emergência da radícula. Por outro lado, o ABA não afeta a fase I da embebição, o crescimento inicial do embrião ou a ruptura da testa. Os mecanismos através dos quais o ABA atua na germinação ainda estão sendo estudados, mas devem envolver a regulação da atividade de canais de transporte de íons na membrana e a quantidade de aquaporinas, que alteram a entrada de água na célula. É possível também que o ABA atue restringindo a disponibilidade de metabólitos (por exemplo, a mobilização de lipídios) e energia para o desenvolvimento do embrião.

A aplicação de etileno estimula a germinação de algumas sementes, como em *Cucumis anguria*, muitas vezes em interação com a luz e outros hormônios, como o ABA, as citocininas e o ácido giberélico. O etileno parece contrapor-se ao efeito inibitório do ABA na germinação por interferência na cadeia de transdução de sinais do ABA. Isoladamente, o etileno não é capaz de quebrar a dormência de sementes de algumas espécies, embora estimule a germinação de sementes não dormentes dessas espécies. É o caso de algumas sementes que requerem luz para germinar e cuja

germinação, após tratamento com inibidores da biossíntese ou ação do etileno, é inibida na luz; entretanto, o tratamento com etileno não promove a germinação no escuro. Sementes germinantes com bons índices de vigor podem liberar quantidades relativamente elevadas desse gás, sendo que a quantidade emanada de sementes dormentes tende a ser menor do que de sementes quiescentes, como ocorre em amendoim. Em sementes embebidas de *Amaranthus caudatus* (amaranto) e *Cucumis anguria*, o etileno é detectado antes da protrusão da radícula, havendo um pico de produção associado à germinação visível. Na semente, o sítio de produção de etileno localiza-se quase exclusivamente no eixo embrionário, particularmente nas zonas de alongamento e diferenciação celular na radícula. Primariamente, o etileno poderia agir na promoção do crescimento radial do hipocótilo e no aumento da taxa de respiração. Assim como as giberelinas, acredita-se que o etileno estimule a síntese de enzimas relacionadas à degradação do endosperma, dentre essas a endo- β -mananase e a β -1,3-glucanase (ver Cap. 13, Etileno).

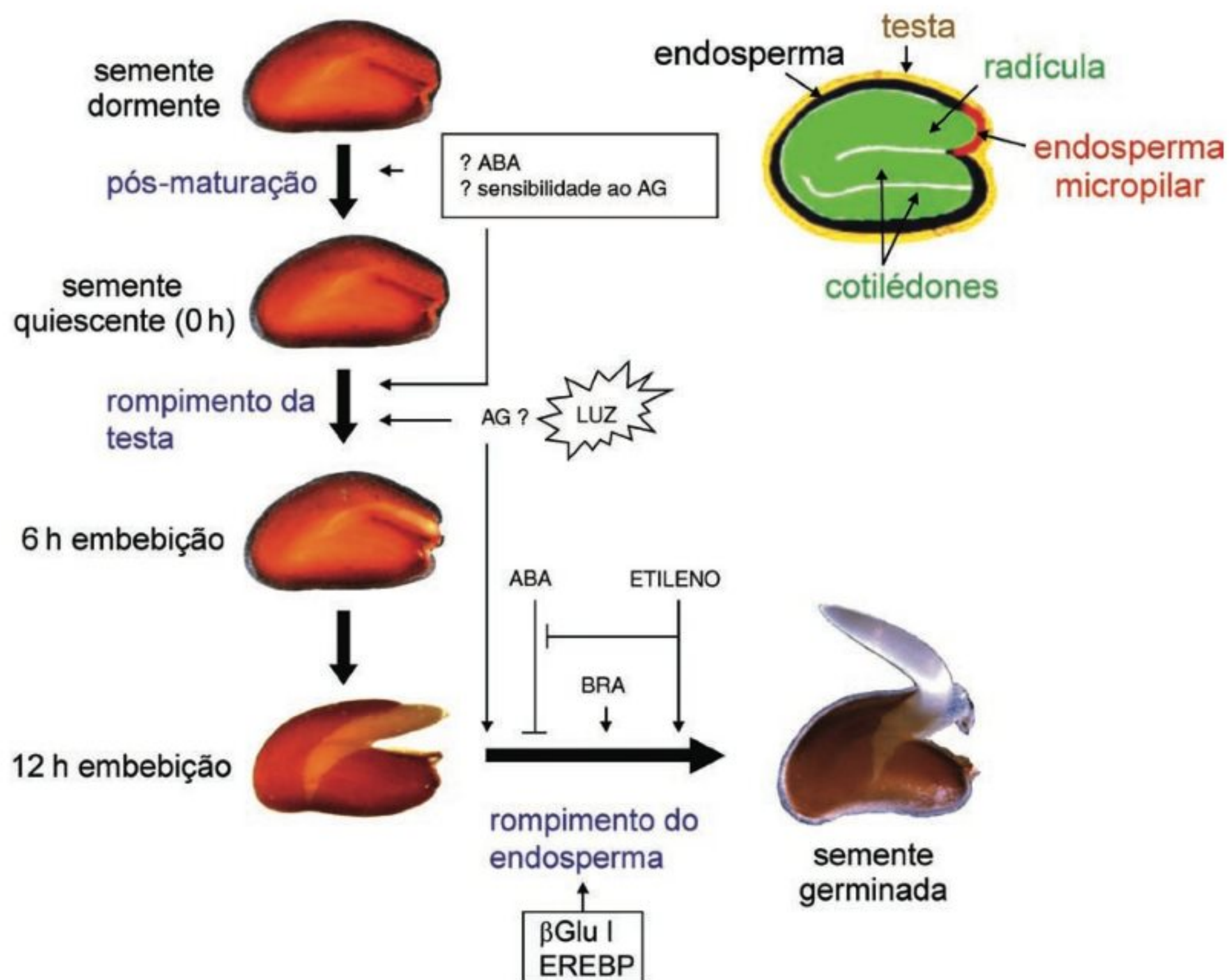


FIGURA 20.8

Interações hormonais envolvendo ativação (\rightarrow) e repressão (\top) durante diferentes fases da germinação de sementes de tabaco. ABA = ácido abscísico; AG = giberelina ativa; BRA = brassinosteróides; β Glu I = β -1,3-glucanase classe I; EREBP = proteínas de ligação a elemento sensível ao etileno (*ethylene responsive element binding proteins*). Em detalhe, esquema de uma semente de tabaco. (Kucera *et al.*, 2005; esquemas das sementes obtidos de Muller *et al.*, 2006, *Plant and Cell Physiology*, Oxford University Press, <http://www.seedbiology.de/html2/pcp06-abs.html>.)

A germinação também pode ser promovida pela aplicação de citocininas, como em *Rumex obtusifolius* (língua-de-vaca), porém os efeitos do hormônio endógeno nesse processo ainda são pouco conhecidos. Assim como em diversos outros fenômenos, a ação das citocininas no controle da germinação e dormência parece envolver a interação com outros hormônios, como o ABA e o etileno.

A ação dos brassinosteróides (BRA) na germinação ainda não está bem esclarecida, mas pesquisas recentes com *Arabidopsis thaliana* sugerem que essa classe de hormônios estimule a germinação e antagonize o efeito do ABA na manutenção da dormência, possivelmente promovendo a síntese de giberelinas. Estudos realizados em sementes de tabaco sugerem que AG e BR agem em paralelo na promoção do alongamento celular e germinação, ambos contrapondo-se ao efeito inibitório do ABA (Fig. 20.8).

Ácido jasmônico, uma substância isolada de várias partes da planta (incluindo sementes imaturas), inibe a germinação de sementes mas também pode contribuir para com a quebra de dormência, como observado em *Acer* spp. Neste caso, sementes livres do pericarpo e tratadas com o hormônio requerem um tempo menor de estratificação (tratamento de frio) para adquirir a capacidade de germinar.

De forma resumida, na Fig. 20.8 é apresentada a ação de hormônios vegetais no controle da germinação de sementes de tabaco.

Fatores que influenciam a germinação

A seção anterior tratou de alguns aspectos do controle da germinação principalmente por intermédio da ação de fitormônios. Por outro lado, trabalhos com mutantes (particularmente *Arabidopsis*) mostram que a germinação e a dormência devem estar submetidas a um complexo controle genético, conforme mostra o grande número de *loci* identificados até o presente momento. Esses genes, por sua vez, determinam toda uma gama de caracteres da semente, desde morfológicos até fisiológicos, que irão afetar sua resposta aos diversos fatores do meio. Por sua vez, as condições que propiciam uma germinação bem-sucedida representam as mesmas condições às quais a plântula estará submetida. Se tais condições permitirem que a planta jovem cresça e se reproduza, isso assegurará em última análise o sucesso do genótipo. Portanto, a sobrevivência da planta num determinado ambiente passa pela capacidade de resposta da semente aos diferentes sinais do meio. Nesta seção será discutido como as sementes respondem a alguns fatores ambientais (luz, temperatura, potencial hídrico, fatores químicos, gases e fatores bióticos) e a fatores endógenos (morfologia e viabilidade). A dormência será tratada num item à parte.

LUZ

A influência da luz nas sementes pode começar já na fase de maturação. Por exemplo, sementes de *Cucumis anguria* obtidas de frutos amadurecidos na planta sob condições de dias curtos

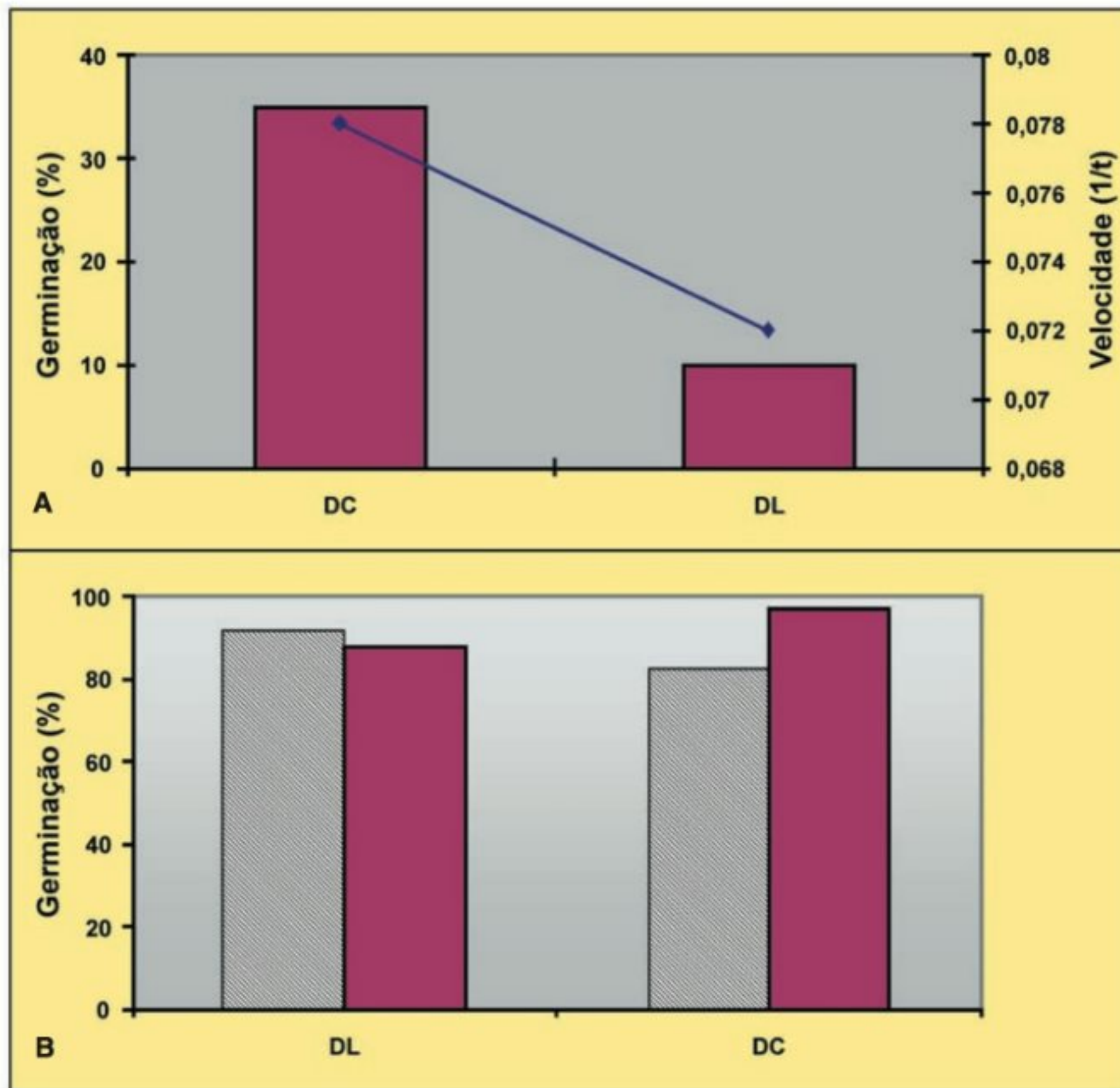
germinam mais rapidamente em comparação com tratamento de dias longos (Fig. 20.9). A resposta germinativa ao fotoperíodo pode estar associada à fenologia da planta. Algumas linhagens de *Arabidopsis* podem germinar e se reproduzir no outono ou na primavera. Assim, em populações que florescem no outono, as sementes amadurecem sob dias curtos. Experimentos de laboratório com sementes obtidas de plantas crescidas sob condições que simulam dias curtos e dias longos mostraram que a resposta à estratificação é relativamente maior em sementes amadurecidas sob dias curtos (Fig. 20.9), sugerindo que sementes maturadas no outono sejam estimuladas a germinar na primavera seguinte, após passarem pelo frio do inverno. Em algumas leguminosas, o fotoperíodo aplicado durante a fase final de maturação pode influenciar a germinação, modificando o desenvolvimento do tegumento.

Mesmo após a colheita, a luz pode afetar a germinação, como em *Cucumis sativus* (pepino), no qual o armazenamento de frutos sob fotoperíodo de 8 h promove a germinação em comparação a fotoperíodo de 20 h, sendo que o efeito persiste nas sementes após estas ficarem armazenadas por 270 dias. A qualidade da luz (relação entre vermelho e vermelho extremo) incidente sobre frutos recém-colhidos e sobre sementes submetidas à secagem também pode influenciar a germinação.

A percepção da luz pela semente ocorre através do pigmento *fitocromo*, uma cromoproteína vegetal que absorve luz vermelha (V) e vermelho extremo (VE) (ver Cap. 15, Fotomorfogênese). Esse pigmento é encontrado na forma *Fv*, inativa, com absorção máxima em V (660 nm), e na forma *Fve*, ativa, com pico de absorção em VE (730 nm). Existem cinco tipos diferentes de fitocromo — A, B, C, D e E — codificados respectivamente pelos genes *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* e *PHYE*. Comprimentos de onda ricos em VE tendem a inibir a germinação, devido à fotoconversão do *Fve* para a forma *Fv*. A luz filtrada pelo dossel (com baixa razão V/VE) reduz o *fotoequilíbrio* ou *estado fotoestacionário* do fitocromo (*Fve*:fitocromo total), inibindo a germinação. Do mesmo modo, a ação da cobertura vegetal e/ou dos tecidos que envolvem a semente, durante sua maturação na planta-mãe, podem fazer com que o *fotoequilíbrio* no embrião seja baixo ao final de seu desenvolvimento. Portanto, uma semente amadurecida num ambiente rico em VE (como sob dossel) pode ter sua germinação inibida e apresentar maior dormência.

A participação da luz pode ocorrer tanto na indução ou quebra da dormência, quanto na germinação propriamente dita. A ação da luz no controle do crescimento embrionário é exemplificada por sementes de maxixe, cuja germinação é inibida pela exposição prolongada à luz branca, mas que germinam prontamente em escuro.

De um modo geral, as sementes podem ser divididas em três grupos, dependendo de sua resposta germinativa à luz branca: sementes cuja germinação é indiferente à luz (afotoblásticas ou neutras, como o feijão e a maioria das hortaliças); sementes que apresentam maior germinabilidade e/ou velocidade de germinação sob luz do que no escuro (fotoblásticas positivas), tais como *Cecropia glaziovii* (embaúba), *Plantago tomentosa* (tanchagem) e

**FIGURA 20.9**

A. Germinação final (barras) e velocidade de germinação (linha), sob luz branca, de sementes de *Cucumis anguria* provenientes de frutos amadurecidos em condições de dias curtos (DC, 8 h) e dias longos (DL, 16 h); B. Germinação de sementes de *Arabidopsis* (Donohue, 2005) amadurecidas sob dias longos (DL, 14 h) e dias curtos (DC, 10 h), submetidas a estratificação (barras cheias) ou não (barras hachuradas).

Hyptis suaveolens; e sementes que germinam melhor no escuro do que sob luz (fotoblásticas negativas), como *Sida rhombifolia* (guanxuma), *Catharanthus roseus* e *Ricinus comunis* (mamona). Entretanto, a resposta da semente à luz não é um caráter absoluto, dependendo de inúmeros fatores, tais como condições de maturação, tempo de armazenamento, integridade dos tegumentos, nitrato, potencial hídrico do meio e temperatura de germinação.

Os efeitos da luz na germinação podem ser agrupados em três categorias principais:

- efeitos de exposição curta: a germinação é estimulada ou inibida dependendo do comprimento de onda, numa densidade mínima de fluxo de fótons (fluência) em torno de $1 \mu\text{mol m}^{-2}$. A saturação da resposta ocorre em fluências relativamente baixas (ao redor de $100 \mu\text{mol m}^{-2}$), sendo chamada de *resposta de baixa fluência* (RBF);
- efeitos de exposição curtíssima: as sementes apresentam uma *resposta de fluência muito baixa* (RFMB), saturando em fluências da ordem de $0,1 \mu\text{mol m}^{-2}$;

- efeitos de exposição longa: a *resposta de alta irradiância* (RAI) é dependente da composição espectral e, principalmente, da irradiância (energia ou fótons por unidade de área por unidade de tempo), necessitando de exposições prolongadas e altas intensidades luminosas.

O tipo de resposta da semente à luz depende, dentre outros fatores, do lote, dos pré-tratamentos (por exemplo, tratamento térmico), condições de maturação e pós-dispersão e das condições de realização do experimento. Assim, uma mesma espécie pode apresentar os três tipos de resposta à luz (RFB, RFMB e RAI), como observado em certas variedades de *Lactuca sativa* (alface): quando a semente é previamente tratada com temperatura alta, a resposta muda de RFB para RFMB; ao passo que exposições prolongadas a irradiâncias acima de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ inibem a germinação.

A resposta do tipo RFB é mediada pelo fitocromo B, enquanto RFMB e RAI são mediadas pelo fitocromo A. Experimentos realizados com mutantes de *Arabidopsis* sugerem também a participação do fator temperatura no controle da germinação pelo

fitocromo. Assim, nessas sementes o fitocromo A controlaria a germinação em temperaturas mais elevadas, e o fitocromo E em temperaturas mais baixas. O fitocromo B participaria da germinação numa faixa mais ampla de temperatura.

A percepção da luz pela semente é determinada, em última análise, pela dinâmica do fitocromo, que, por sua vez, é influenciada pela intensidade e qualidade da luz. Diversos componentes do ambiente e da própria semente “filtram” a luz que atinge o embrião, alterando a irradiância e a proporção dos comprimentos de onda percebidos pelo fitocromo, conforme ilustrado na Fig. 20.10. Como exemplo, na faixa de 400 a 800 nm, a luz que alcança a profundidade de 3 mm num substrato de areia úmida é mais rica em comprimentos de onda longos do que curtos, ou seja, contém mais vermelho extremo do que vermelho. A mesma tendência é observada em tegumentos de algumas sementes, como maxixe. Mesmo a serapilheira (camada superficial de material orgânico em decomposição, especialmente vegetal, em solos de florestas)

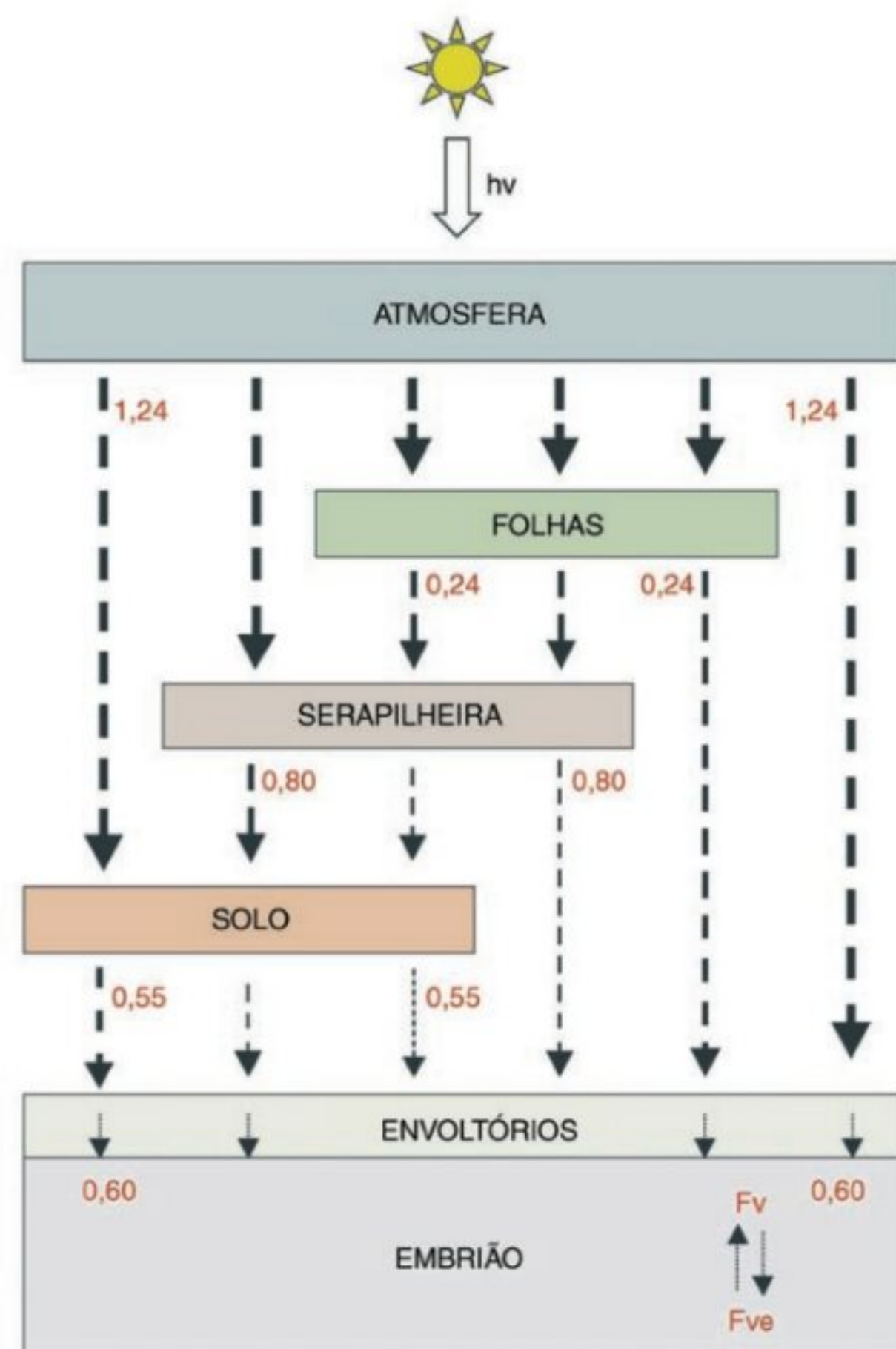


FIGURA 20.10

Esquema simplificado dos principais “filtros” naturais da luz que atinge o embrião. Os números em vermelho representam valores da razão V/VE antes e após alguns “filtros”, sendo que a espessura das setas indica a intensidade luminosa relativa.

pode modificar a proporção de vermelho e vermelho extremo, além, é claro, de reduzir a irradiância sobre o solo.

Sementes maiores ou de espécies em estágios sucessionais mais avançados tendem a ser indiferentes ou ter a germinação inibida pela luz branca, enquanto as sementes pequenas ou de plantas pioneiras necessitam de luz para germinar. A luz filtrada pelo dossel, rica em vermelho extremo, atua inibindo a germinação especialmente de espécies consideradas pioneiras (Tabela 20.2). Nesses casos, a luz pode atuar como um sinal que permite à semente (no caso das embaúbas) detectar a presença de clareiras ou aberturas no dossel.

Um modelo para o modo de ação do fitocromo no controle da germinação é ilustrado na Fig. 20.7, de acordo com estudos realizados em *Arabidopsis*. A luz vermelha produz Fve, que poderá atuar de duas maneiras: a) reprimir a atividade do fator de transcrição SPT (SPATULA), repressor de um gene requerido para a produção de uma forma ativa da giberelina, e b) desencadear a degradação do fator PIF1 (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 1), que ativa a expressão de um gene do catabolismo da giberelina ativa. Desse modo, no caso de *Arabidopsis*, a luz vermelha promoveria a germinação por intermédio do aumento da síntese de giberelinas.

TEMPERATURA

As flutuações térmicas às quais as sementes são continuamente expostas constituem um sinal importante do ambiente no controle das diferentes etapas do desenvolvimento das plantas. Na semente, a temperatura atua tanto na indução e quebra da dormência, quanto no crescimento embrionário. A ação da temperatura pode ocorrer já na fase de desenvolvimento, como em *Amaranthus retroflexus* (caruru), no qual temperaturas mais elevadas na maturação da semente na planta-mãe podem promover um aumento na capacidade de germinação. Em algumas espécies de climas temperados, temperaturas elevadas na maturação também podem induzir dormência na semente.

A germinação da semente não dormente é balizada pelas chamadas *temperaturas cardeais*, ou seja, as temperaturas máxima (T_M), mínima ou base (T_b) e ótima (T_{ot}) para que a germinação ocorra. As temperaturas cardeais são parâmetros fisiológicos característicos de cada semente ou população. A temperatura (ou faixa térmica) ótima é aquela que resulta no maior número de sementes germinadas em menor tempo, ou seja, a que produz maior germinabilidade (capacidade de germinação) e velocidade de germinação (Fig. 20.11).

Em algumas situações, as faixas térmicas ótimas de germinabilidade e de velocidade não são coincidentes, como ocorre em *Salvia hispanica*, podendo mesmo ser completamente separadas. Em *Catharanthus roseus* (vinca), entretanto, a velocidade ótima inclui-se dentro da faixa de germinabilidade máxima.

Em geral, a velocidade de germinação é mais sensível às variações de temperatura do que a germinabilidade, sendo assim usada para a definição do intervalo infra-ótimo entre T_b e T_{ot} , no qual a velocidade aumenta com a temperatura, e do intervalo supra-ótimo entre T_{ot} e T_M , onde a velocidade diminui (Fig. 20.11). A relação entre velocidade e temperatura nos intervalos infra- e supra-ótimos na maioria dos casos é linear, permitindo que a

TABELA 20.2
Capacidade relativa de germinação de algumas espécies pioneiras em diferentes condições de luz
 (Modificado de Vazquez-Yanes *et al.*, 2000; Valio e Scarpa, 2001.)

Espécie	Germinação			
	Escuro	Luz branca	Vermelho extremo	Sob dossel
<i>Carica papaya</i>	Não germinou	Alta	Não germinou	Muito baixa
<i>Cecropia obtusifolia</i>	Não germinou	Alta	Não germinou	Muito baixa
<i>Ficus insipide</i>	Não germinou	Alta	Média	Baixa
<i>Piper auritum</i>	Não germinou	Alta	Não germinou	Muito baixa
<i>Croton floribundus</i>	Alta*	Alta*	—	Muito baixa
<i>Miconia chamiriois</i>	Não germinou	Alta	Alta**	Alta
<i>Solanum gracilliamun</i>	Não germinou	Muito baixa	Não germinou**	Não germinou

*Regime de temperatura alternante 20–30°C; **iluminação rica em VE (baixa razão V/VE).

mesma possa ser analisada segundo modelos como o de graus · dia. Esse modelo pressupõe que na faixa infra-ótima a germinação de uma semente dependa do acúmulo de certa quantidade de “graus · dia” (θ_g), variável de semente para semente, de acordo com a expressão $\theta_g = (T - T_b)t_g$, onde T é a temperatura ambiente e t_g é o tempo necessário para a germinação de uma dada semente (representada por uma fração percentual g). De acordo com esse modelo, considerando-se que θ_g é característica de cada semente, e que o parâmetro T_b varia muito pouco (ou não varia) dentro da população, quanto maior a diferença entre T (fator ambiental) e T_b (parâmetro da semente), menor o tempo (t_g) necessário para a germinação dessa semente.

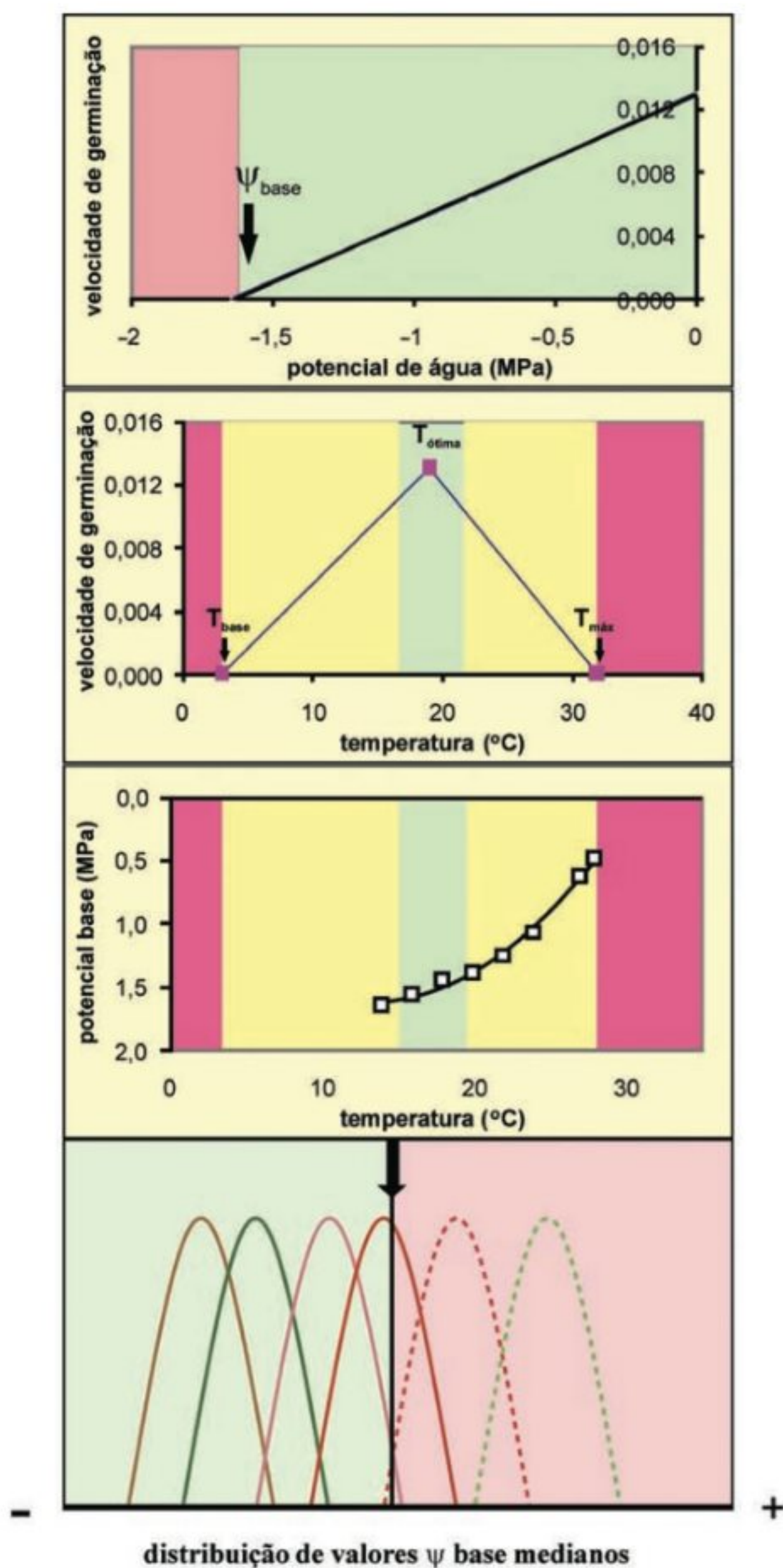
Na faixa supra-ótima, onde a velocidade decresce com o aumento da temperatura, a germinação não depende mais do acúmulo de graus · dia, o qual já teria atingido seu valor máximo na temperatura ótima. Desse modo, o parâmetro graus · dia (agora representado simplesmente pelo símbolo θ) torna-se praticamente constante dentro de toda a população de sementes, ao passo que na faixa infra-ótima ele pode variar de semente para semente. Portanto, acima de T_{ot} , a relação entre os tempos de germinação e a temperatura pode ser representada pela fórmula $\theta = (T_{M(g)} - T)t_g$, onde $T_{M(g)}$ (ou $T_{c(g)}$) indica que o parâmetro temperatura máxima não é constante, mas varia dentro de uma população de sementes. Assim, a exemplo do que ocorre na faixa infra-ótima, o tempo que uma semente levará para germinar numa dada temperatura T dependerá da diferença entre $T_{M(g)}$ e T , mas nesse caso o que irá determinar a distribuição dos tempos de germinação de cada semente será o parâmetro $T_{M(g)}$, e não o acúmulo de graus · dia (θ).

Portanto, a temperatura deve simplesmente adiantar ou atrasar a germinação, sem contudo alterar de maneira significativa a ordem da distribuição dos períodos de germinação. Se imaginarmos, por exemplo, que numa população de sementes existam as “rápidas” (as primeiras sementes a germinarem), as

“intermediárias” e as “lentas”, uma semente do grupo das rápidas provavelmente irá sempre germinar antes de uma do grupo das lentas, independentemente da temperatura. A influência da temperatura simplesmente tornaria a distribuição de frequências de germinação das sementes mais agrupada (sincronizada) ou mais espalhada ao longo do tempo. Os fatores determinantes de uma semente ser mais lenta ou mais rápida do que a outra seriam seus parâmetros fisiológicos T_b e T_M .

Em geral, sob condições naturais, a semente está exposta a um ambiente no qual a temperatura exhibe uma variação cíclica. Essa flutuação tem sido considerada, juntamente com a luz, um importante fator ecológico para a percepção do microambiente pela semente. A amplitude térmica (diferença entre as temperaturas máxima e mínima de um ciclo), por exemplo, pode indicar a distância de uma semente enterrada em relação à superfície do solo, já que essa diferença tende a diminuir com o aumento da profundidade. Em laboratório, uma simulação das condições naturais pode ser feita através de experimentos com temperaturas alternantes, onde as sementes são expostas alternadamente a duas temperaturas, em ciclos de 24 horas. Na análise da resposta da semente à alternância térmica deve-se levar em conta, além da amplitude, outras variáveis, tais como número de ciclos, temperaturas máxima e mínima, tempo de exposição a cada temperatura, temperatura média e velocidade de mudança da temperatura.

Na germinação de sementes, os efeitos da temperatura estão relacionados principalmente a dois processos: a) transconformação de macromoléculas, especialmente proteínas, e b) regulação da expressão gênica. A transconformação — mudança na configuração espacial da estrutura molecular — pode significar, em se tratando de uma enzima, uma alteração em sua capacidade de catálise e, portanto, na velocidade das reações químicas na célula. Mostrou-se também que flutuações térmicas acentuadas (temperaturas baixas ou altas) podem ativar ou reprimir genes específicos, alterando assim o programa morfogênico da

**FIGURA 20.11**

Esquema dos efeitos do potencial de água e da temperatura na germinação. A. Relação entre velocidade de germinação e o potencial de água; áreas verde e vermelha indicam, respectivamente, faixa de Ψ onde ocorre e não ocorre germinação. B. Relação entre temperatura (°C) e velocidade de germinação (1/tempo médio); área verde indica intervalo térmico ótimo; áreas amarelas indicam os intervalos infra-ótimo (entre temperaturas base e ótima) e supra-ótimo (entre temperaturas ótima e máxima); áreas vermelhas indicam temperaturas em que não há germinação. C. Relação entre potencial hídrico base (Ψ_{base}) e temperatura; áreas coloridas, idem B. D. Efeito de diferentes temperaturas nas distribuições dos valores de Ψ_{base} dentro de uma população de sementes; linha base representa diferentes valores de Ψ , com os menores valores à esquerda (-) e os maiores à direita (+); áreas verde e vermelha indicam, respectivamente, faixa de Ψ onde ocorre e não ocorre germinação; seta representa Ψ do meio. (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006.)

semente. Assim, por exemplo, temperaturas elevadas ou baixas podem levar à expressão de proteínas específicas, chamadas *proteínas de choque térmico* (HSP), provavelmente relacionadas a mecanismos de proteção da célula em condições térmicas desfavoráveis que envolvem, por exemplo, a estabilização da estrutura tridimensional de proteínas.

POTENCIAL HÍDRICO

A água é o principal fator para o início da germinação, considerando-se que o embrião não cresce a menos que haja uma entrada de água nos tecidos, suficiente para gerar pressão de turgescência

necessária para a expansão celular (ver Cap. 1, Relações Hídricas). Além disso, como mencionado anteriormente (item *Embebição*), a retomada do metabolismo na semente depende do aumento da hidratação dos tecidos.

As sementes respondem diferentemente à quantidade de água no substrato: um excesso de água pode tanto promover (como em *Ludwigia octovalvis*) como inibir (exemplo, *Spinacia oleracea*) a germinação. Em geral, sementes de mesófitas requerem um substrato saturado de água, porém sem alagamento, para uma boa germinação.

A deficiência de água durante o desenvolvimento da semente também pode afetar sua germinação. Em soja, se a planta sofrer

estresse hídrico durante a fase de enchimento do grão, a germinação diminui proporcionalmente ao número de dias de estresse. Já em espécies arbóreas de cerrado, sementes dispersas na estação seca podem germinar mais rapidamente do que sementes disseminadas na estação chuvosa, as quais apresentam maior dormência.

No solo, o gradiente de potencial de água entre o meio e a semente sofre a influência de inúmeros fatores, variando ao longo do tempo. A embebição, por exemplo, leva a um aumento do potencial hídrico (valor menos negativo) da semente (Ψ_{sem}) e a uma redução do potencial hídrico do solo (valor mais negativo) nas imediações da semente. O aumento do metabolismo na semente germinante, por sua vez, eleva a quantidade intracelular de substâncias osmoticamente ativas, tendendo a reduzir Ψ_{sem} . Além disso, processos de drenagem da água e de evaporação também contribuem para as alterações nos gradientes de potencial hídrico na interface solo-semente. Demonstrou-se também que a topografia da testa (lisa, reticulada, com espinhos, etc.) e o tamanho da semente em relação ao tamanho das partículas do solo apresentam efeitos significativos sobre as relações hídricas, modificando a área de contato entre a testa e o solo.

A dependência da germinação em relação ao potencial hídrico (Ψ) é similar ao efeito da redução da temperatura na faixa infra-ótima. Portanto, assim como a temperatura, a diminuição do Ψ no meio provoca uma redução na velocidade de germinação ou mesmo na germinabilidade, dependendo do Ψ . Desse modo, também existem modelos que quantificam a germinação em função do Ψ , levando-se em conta a existência de um relação linear entre Ψ e velocidade de germinação até um valor mínimo de potencial conhecido como Ψ -base (Ψ_b). Portanto, o Ψ_b é um parâmetro que indica o limite mínimo de potencial de água no qual a semente é capaz de completar a germinação (Fig. 20.11). Assim, o tempo que a semente demora a germinar pode ser calculado em função do acúmulo de uma certa quantidade de $\Psi \cdot$ dia (θ_H) — de maneira análoga aos graus \cdot dia — de acordo com a expressão $\theta_H = (\Psi - \Psi_{b(g)})t_g$, onde Ψ é o potencial de água do meio e a notação $\Psi_{b(g)}$ indica que o Ψ_b varia de semente para semente, ou seja, cada semente tem um valor de Ψ mínimo necessário para sua germinação. Gráficos da velocidade de germinação de grupos de sementes em função do Ψ têm resultado em curvas lineares — como aquela mostrada na Fig. 20.11A — e paralelas, mostrando que θ_H (calculado como o inverso da inclinação de cada curva) é relativamente constante dentro da população. Considerando-se, portanto, que o parâmetro θ_H é essencialmente o mesmo para todas as sementes da população, a distribuição dos tempos de germinação de cada semente, numa dada temperatura e potencial de água, é determinada pela distribuição dos valores de $\Psi_{b(g)}$ dentro de cada semente. Quanto mais o Ψ do meio exceder o $\Psi_{b(g)}$ da semente, mais rápido essa semente irá germinar, ou seja, menor o valor de t_g .

Experimentos mostram que a distribuição de $\Psi_{b(g)}$ na população de sementes pode variar com a temperatura, particularmente na faixa supra-ótima (Fig. 20.11C). Nesse intervalo, quanto maior a temperatura, ou seja, quanto mais ela estiver próxima de T_M , maior (menos negativo) é o Ψ -base, sendo que

a curva de variação do $\Psi_{b(g)}$ em relação à temperatura tende a alcançar o valor máximo ($\Psi =$ zero) justamente quando a temperatura atinge o ponto correspondente a T_M . Nessa temperatura, portanto, a semente deixa de germinar mesmo em água destilada. A Fig. 20.11D mostra que o aumento da temperatura faz com que a distribuição dos valores de Ψ_b das sementes tenda para a direita, em direção a valores maiores. Inicialmente apenas a velocidade de germinação é afetada, mas a partir de temperaturas onde eventualmente ocorram valores de Ψ_b maiores do que o Ψ ambiente, a germinação final também é reduzida, chegando a ser nula, como exemplificado na curva pontilhada mais à direita do gráfico (Fig. 20.11D). O Ψ_b também pode variar em função do estado de dormência ou não dormência da semente (Fig. 20.12), como será discutido no item *Dormência*.

Embora a deficiência de água no meio possa retardar ou mesmo inibir totalmente a germinação, sabe-se que um estresse hídrico temporário pode, em muitos casos, estimular a velocidade de emergência da radícula. A embebição prévia das sementes numa solução osmótica, principalmente de polietilenoglicol (PEG) ou manitol, inibe a quantidade e a velocidade de entrada de água, impedindo assim a protrusão radicular. Após esse tratamento, também chamado de *osmocondicionamento*, procede-se à secagem da semente, que então poderá ser colocada para germinar nas condições desejadas. O tratamento sincroniza a germinação e as sementes se tornam menos sensíveis à temperatura e a condições de hipóxia. O efeito do osmocondicionamento tem sido associado a diversos processos celulares, entre eles a síntese de RNA e proteínas, aumento da produção de etileno e aumento da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, reduzindo assim processos oxidativos especialmente na membrana.

A água não só é fator determinante do processo de germinação propriamente dito, como também pode atuar na quebra da dormência. Sementes da planta aquática *Eichhornia crassipes* (aguapé), por exemplo, necessitam de um período de dessecação para adquirir a capacidade de germinar após nova reidratação.

FATORES QUÍMICOS

Substâncias orgânicas (aleloquímicos) e inorgânicas (íons) podem influenciar a germinação de sementes no solo. Normalmente, pelo fato de as sementes apresentarem-se relativamente supridas de íons, sua dependência de minerais para a germinação não chega a ser muito grande, dependendo é claro do conteúdo de reservas na semente madura. Uma exceção pode ser feita ao nitrato, que, além de ser amplamente utilizado como promotor da germinação em inúmeras espécies, parece atuar, juntamente com a luz e a temperatura, como um sinal do ambiente. O nitrato pode indicar a presença de clareiras numa floresta, já que nesses microambientes — além da variação da luz e temperatura — a disponibilidade do íon tende a ser maior devido a uma menor absorção por sistemas radiculares.

Os efeitos do nitrato nas sementes têm sido associados não só à promoção da germinação propriamente dita, como também à quebra da dormência, como observado em sementes de *Bracharia*

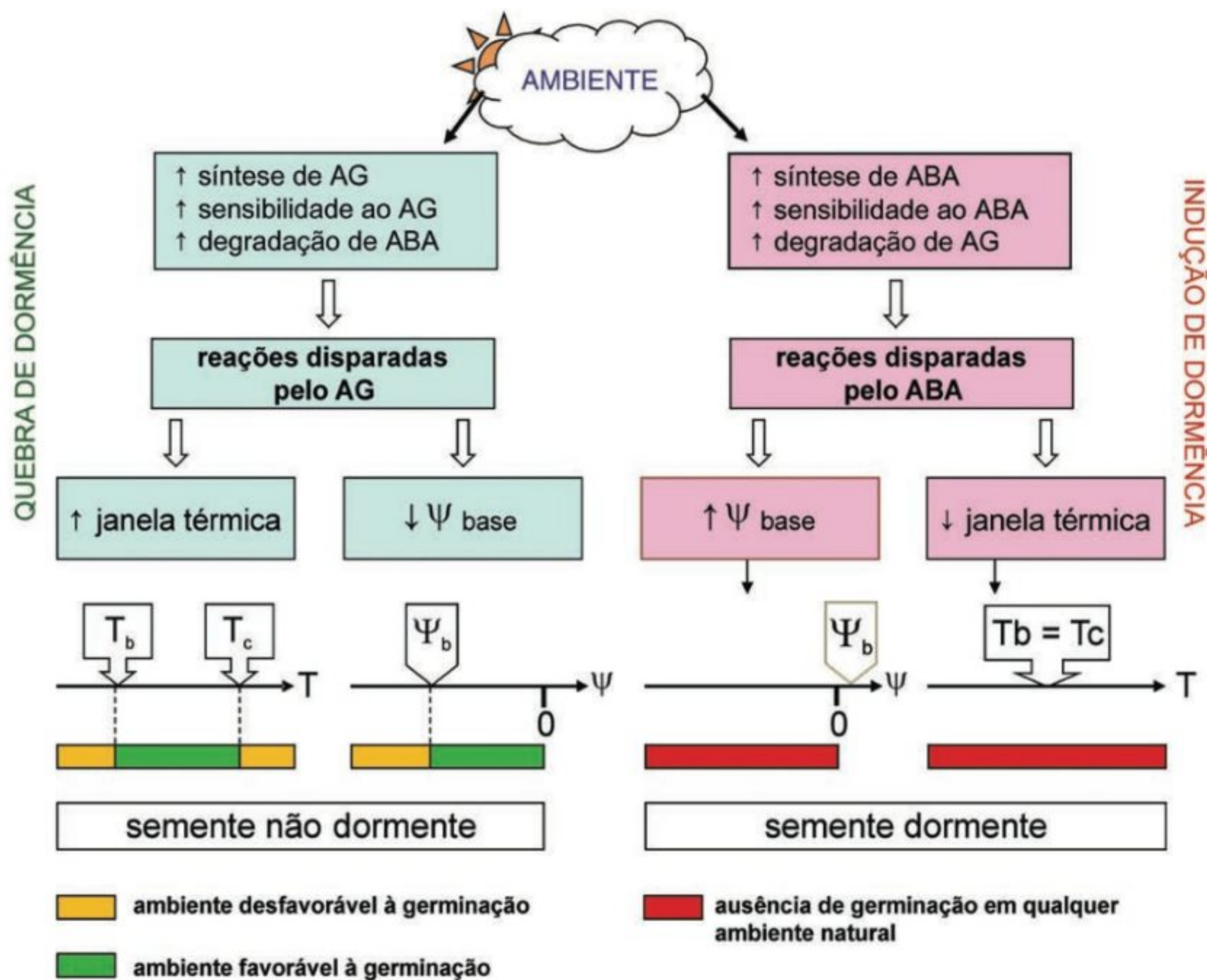


FIGURA 20.12

Modelo de eventos relacionados a indução e quebra de dormência em sementes. Fatores ambientais, atuando por intermédio do controle da síntese e resposta a hormônios, modificam parâmetros fisiológicos da semente e mudam sua capacidade de resposta ao ambiente. (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006.) T_b = temperatura base ou mínima necessária para a germinação; T_c = temperatura máxima na qual a semente pode germinar; Ψ_b = potencial de água base, ou mínimo, para germinação.

brizantha — uma gramínea de origem africana extensivamente usada como forrageira no Brasil — e *Panicum maximum* (capim-colômbio). Em geral, a resposta da semente ao nitrato é dependente da luz e/ou da temperatura, sendo comum em sementes fotossensíveis de *Plantago lanceolata* e *Sinapis arvensis* (mostarda) a substituição da necessidade de luz pelo íon, enquanto em *Sisymbrium officinale* os efeitos são sinérgicos. O aumento da sensibilidade das sementes ao fitocromo Fve pelo nitrato pode ser através de um receptor protéico na membrana, aumentando a afinidade dessa proteína pelo fitocromo. A ligação receptor–fitocromo, por sua vez, desencadeará uma série de reações em cascata, levando ao crescimento do embrião.

Vale ressaltar que estudos realizados em plantas de *Arabidopsis thaliana* mostraram que o íon nitrato desempenha um papel regulador intenso sobre a expressão de genes *AtIPT*, estes responsáveis pela síntese de isopentenil transferase, uma enzima chave na biossíntese de citocininas nas plantas (Takei *et al.*, 2004).

Quando em excesso, os íons em geral podem alterar ou inibir a germinação. Em condições de salinidade, algumas sementes (como de rabanete) podem adquirir sensibilidade à luz, a qual passa a inibir a germinação.

Substâncias orgânicas (como fenilpropanóides e derivados do ácido benzóico) liberadas por material vegetal vivo ou morto também podem influenciar a germinação no ambiente natural. A maior parte dessas substâncias (coletivamente denominadas alelopáticas) atua inibindo a germinação, embora outras possam promover, como o *estrigol*, substância encontrada no exsudado de raízes de *Sorghum bicolor*, que induz a germinação de uma angiosperma parasita, *Striga asiatica*. São inúmeras as espécies que produzem substâncias potencialmente alelopáticas, dentre elas *Sorghum halepense* (capim-massambará), *Cyperus rotundus* (tiritica), *Brachiaria decumbens* e *Ocotea odorifera* (canela-sassafrás); entretanto, ainda são poucas as evidências que demonstrem seu efeito sobre a germinação em condições naturais.

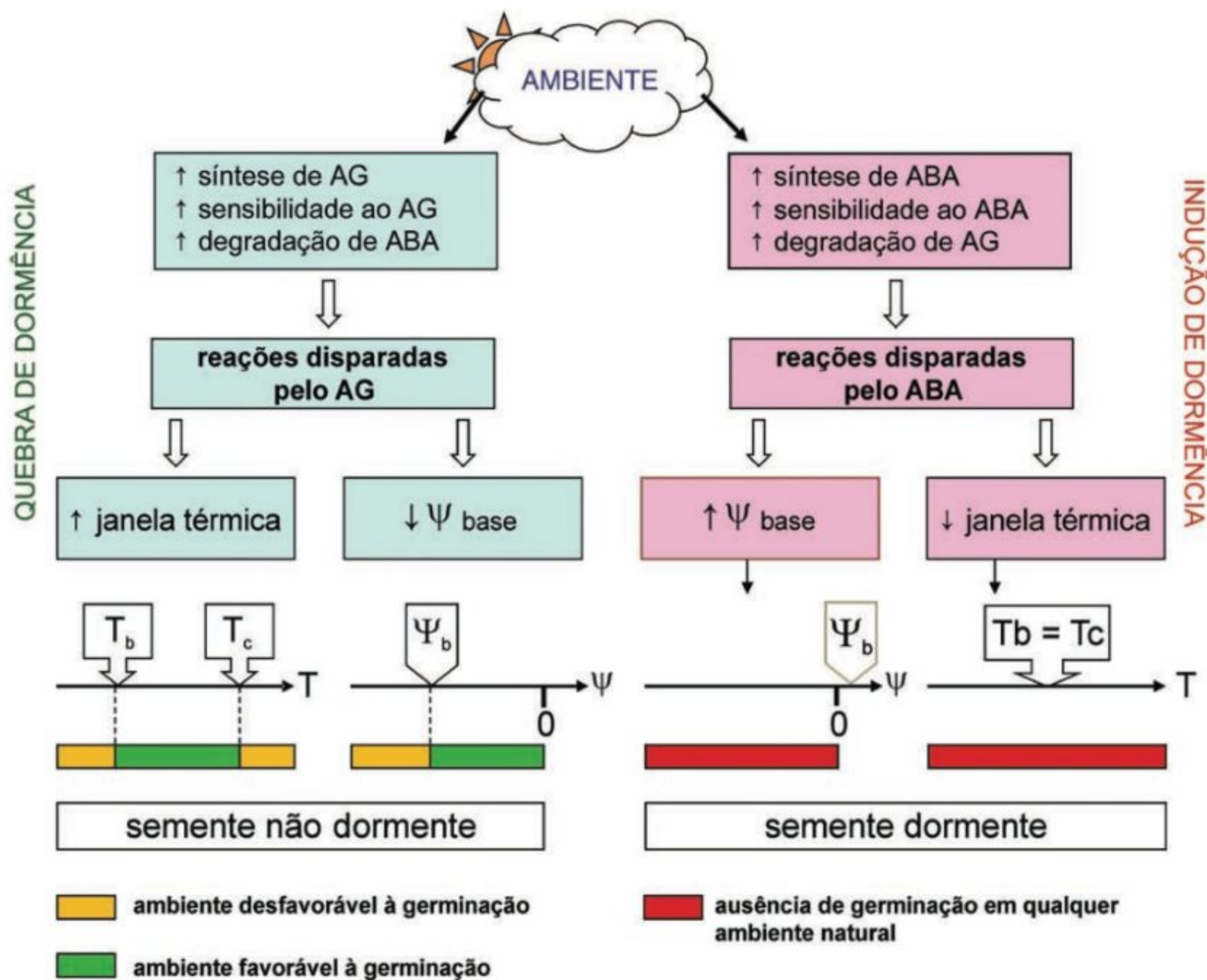


FIGURA 20.12

Modelo de eventos relacionados a indução e quebra de dormência em sementes. Fatores ambientais, atuando por intermédio do controle da síntese e resposta a hormônios, modificam parâmetros fisiológicos da semente e mudam sua capacidade de resposta ao ambiente. (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006.) T_b = temperatura base ou mínima necessária para a germinação; T_c = temperatura máxima na qual a semente pode germinar; Ψ_b = potencial de água base, ou mínimo, para germinação.

brizantha — uma gramínea de origem africana extensivamente usada como forrageira no Brasil — e *Panicum maximum* (capim-colômbio). Em geral, a resposta da semente ao nitrato é dependente da luz e/ou da temperatura, sendo comum em sementes fotossensíveis de *Plantago lanceolata* e *Sinapis arvensis* (mostarda) a substituição da necessidade de luz pelo íon, enquanto em *Sisymbrium officinale* os efeitos são sinérgicos. O aumento da sensibilidade das sementes ao fitocromo Fve pelo nitrato pode ser através de um receptor protéico na membrana, aumentando a afinidade dessa proteína pelo fitocromo. A ligação receptor–fitocromo, por sua vez, desencadeará uma série de reações em cascata, levando ao crescimento do embrião.

Vale ressaltar que estudos realizados em plantas de *Arabidopsis thaliana* mostraram que o íon nitrato desempenha um papel regulador intenso sobre a expressão de genes *AtIPT*, estes responsáveis pela síntese de isopentenil transferase, uma enzima chave na biossíntese de citocininas nas plantas (Takei *et al.*, 2004).

Quando em excesso, os íons em geral podem alterar ou inibir a germinação. Em condições de salinidade, algumas sementes (como de rabanete) podem adquirir sensibilidade à luz, a qual passa a inibir a germinação.

Substâncias orgânicas (como fenilpropanóides e derivados do ácido benzóico) liberadas por material vegetal vivo ou morto também podem influenciar a germinação no ambiente natural. A maior parte dessas substâncias (coletivamente denominadas alelopáticas) atua inibindo a germinação, embora outras possam promover, como o *estrigol*, substância encontrada no exsudado de raízes de *Sorghum bicolor*, que induz a germinação de uma angiosperma parasita, *Striga asiatica*. São inúmeras as espécies que produzem substâncias potencialmente alelopáticas, dentre elas *Sorghum halepense* (capim-massambará), *Cyperus rotundus* (tiritica), *Brachiaria decumbens* e *Ocotea odorifera* (canela-sassafrás); entretanto, ainda são poucas as evidências que demonstrem seu efeito sobre a germinação em condições naturais.

Substâncias orgânicas aplicadas ao solo, incluindo-se os herbicidas e pesticidas, podem estimular ou mesmo inibir a germinação. O 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), por exemplo, aumenta a dormência de *Chenopodium album*, enquanto o glifosato estimula a germinação de *Amaranthus retroflexus*.

O pH também pode influenciar a germinação de sementes, principalmente em ensaios de laboratório, onde se recomenda um pH na faixa de 6,0 a 7,5 — o que pode ser conseguido através do uso de tampões no meio.

Na fase de desenvolvimento, em geral, a adição de nutrientes minerais (particularmente o nitrogênio) à planta-mãe resulta em uma progênie com menor grau de dormência, embora existam relativamente poucos trabalhos tratando desse efeito.

FATORES BIÓTICOS

No ambiente natural, as sementes sofrem a influência de outras plantas e animais, que interagem continuamente com os fatores físicos, modificando o microambiente onde se encontra a semente, como por exemplo: a) depleção de água e íons da rizosfera pela ação do sistema radicular; b) liberação de substâncias voláteis (como o octiltiocianato) por fungos presentes no solo, que podem estimular a germinação; c) ação de larvas de insetos que penetram na semente, podendo causar danos ao tegumento e/ou ao embrião, neste último caso inviabilizando a semente; d) deslocamento de frutos e sementes — como a mamona e a copaíba (*Copaifera langsdorffii*) — por formigas, que ao transportarem o material vegetal para seus ninhos podem levar a semente a microambientes mais propícios à sua germinação e/ou conservação; e) remoção do arilo (excrescência que se forma sobre a superfície do tegumento de algumas sementes) por formigas, por exemplo, promove a germinação de sementes, como em *Calathea* sp. (Marantaceae); e f) microrganismos do solo, como *Azotobacter chroococcum*, que podem inibir a germinação.

Interações entre sementes e fatores bióticos podem ser bastante complexas, como no caso de orquídeas e micorrizas. Neste caso, a semente não apresenta praticamente nenhuma substância de reserva, e sua germinação depende extensamente da associação com um fungo micorrízico. Tendo penetrado na semente ou no protocormo (embrião em início de germinação), o fungo absorve matéria orgânica (como a celulose) do meio externo, transformando-a em açúcares simples, os quais são transportados para o interior das células do embrião através das hifas da micorriza. Digerindo as hifas internas do fungo, a planta obtém estes e outros metabólitos necessários para sua germinação e crescimento, ao passo que o fungo vai invadindo novas células de seu hospedeiro.

Pode-se também considerar como influência biótica o efeito, sobre a germinação, do posicionamento da semente no órgão ou em diferentes partes da planta-mãe, particularmente em relação à maior ou menor distância da fonte de nutrientes, o que afetaria a disponibilidade de energia para o embrião. Em *Bidens pilosa* (picão-preto), a disposição do aquênio no capítulo produz um dimorfismo morfológico — os aquênios centrais são maiores do que os periféricos — e fisiológico no

fruto, enquanto em *Commelina virginica* (trapoeraba) as flores aéreas e subterrâneas (cleistogâmicas) produzem sementes com comportamentos germinativos diferentes. O heteromorfismo (literalmente, variação da forma) das sementes deve-se ao fato de que seu desenvolvimento é afetado por fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, não se processando de maneira uniforme dentro de uma população, ainda que as plantas cresçam no mesmo ambiente.

Estudos realizados em leguminosas mostram que características morfológicas e coloração do tegumento, como em *Glycine max* e *Crotalaria*, podem determinar seu grau de permeabilidade à água, o que por sua vez afeta a qualidade fisiológica da semente.

Quanto ao tamanho, em muitos casos são descritas correlações positivas entre a massa da semente e a capacidade de germinação, vigor e/ou sobrevivência das plântulas, mas isso está longe de constituir uma regra geral. Assim existem espécies, tais como *Hyptis suaveolens*, nas quais sementes grandes apresentam germinabilidade mais elevada do que sementes pequenas; espécies nas quais a germinação de sementes pequenas tende a ser maior (p. ex., *Rumex crispus*); e espécies cuja capacidade de germinação é independente do tamanho da semente (como o milho). Em algumas espécies de sementes grandes, um elevado investimento metabólico na produção de envoltórios faz com que o desenvolvimento posterior da plântula ocorra em taxas menores, produzindo uma correlação negativa entre massa da semente e taxa de crescimento relativo.

VIABILIDADE

A capacidade de uma semente em reter seu potencial germinativo é denominada *viabilidade*, enquanto *longevidade* é o tempo durante o qual a semente conserva sua viabilidade. Em termos ecológicos, a viabilidade possui um papel extremamente importante em espécies colonizadoras ou pioneiras, sujeitas a ambientes desfavoráveis e com amplas oscilações em termos de umidade e temperatura. Associada a outros mecanismos, como a dormência, a viabilidade pode garantir o potencial germinativo (e, portanto, a sobrevivência da progênie) ao longo do tempo.

A longevidade de uma semente na fase pós-dispersão é em geral definida durante o seu período de desenvolvimento. Enquanto algumas sementes sofrem uma acentuada desidratação e adquirem tolerância ao dessecamento na fase de maturação, outras não apresentam tais características (ou as apresentam em grau bem menor), sendo dispersas com conteúdos de água relativamente elevados.

As primeiras são conhecidas como *ortodoxas*, por comportarem-se de um modo relativamente previsível durante o armazenamento, apresentando maior longevidade quando armazenadas em ambientes com umidade e temperatura baixas. Seu período de viabilidade em condições controladas pode ser previsto, com maior ou menor precisão, de acordo com modelos matemáticos baseados em alguns poucos parâmetros característicos da espécie ou lote de sementes. Incluem-se nesse grupo as sementes das principais culturas destinadas à produção de grãos e sementes de espécies pioneiras em geral.

As sementes que não passam pela fase de desidratação rápida durante o desenvolvimento são classificadas como *recalcitrantes* por apresentarem um comportamento muitas vezes imprevisível durante o armazenamento. São sensíveis à dessecação e conservam um metabolismo ativo após a dispersão e durante o armazenamento, ao contrário das sementes ortodoxas. Assim, enquanto sementes ortodoxas têm sua longevidade prolongada com níveis de Ψ interno da ordem de -350 MPa, sementes recalcitrantes deixam de ser viáveis com Ψ na faixa de $-1,5$ a $-5,0$ MPa. De um modo geral, sementes recalcitrantes mantêm níveis elevados de hidratação e atividade metabólica durante toda a fase de maturação e, após a dispersão, parecem comutar precocemente seu metabolismo para o “modo” germinação. Essa mobilização precoce de metabólitos e a ativação da maquinaria metabólica devem provocar uma demanda crescente por água,

levando eventualmente o embrião a uma condição de estresse hídrico.

O padrão recalcitrante é relativamente comum em espécies não pioneiras de florestas tropicais (Tabela 20.3). Tem-se observado também que espécies recalcitrantes parecem investir mais no acúmulo de energia potencial (reservas) do que nos envoltórios, de modo a produzir sementes de maior tamanho e tegumentos permeáveis à água. Entre os métodos pesquisados visando à conservação *ex situ* de sementes recalcitrantes estão a cultura de embriões *in vitro* e criopreservação (armazenamento em nitrogênio líquido, por exemplo.).

Nem todas as espécies são tipicamente recalcitrantes ou ortodoxas, verificando-se a existência de comportamentos intermediários, cujas respostas dependem da sensibilidade ao dessecação, resposta à armazenagem “úmida” e tolerância ao resfria-

TABELA 20.3
Classificação de algumas espécies em relação à longevidade das sementes sob condições de armazenamento
(Modificado de Aguiar *et al.* 1993; Vazquez-Yanes *et al.* 2000; Vieira *et al.* 2001.)

Espécie	Família	Recalcitrante	Ortodoxa
<i>Acacia cornigera</i>	MIMOSACEAE		X
<i>Amaranthus viridis</i>	AMARANTHACEAE		X
<i>Bertholletia excelsa</i>	LECYTHIDACEAE	X	
<i>Carapa guianensis</i>	MELIACEAE	X	
<i>Cedrella odorata</i>	MELIACEAE		X (?)
<i>Ceiba pentandra</i>	BOMBACACEAE		X
<i>Cordia alliodora</i>	BORAGINACEAE		X
<i>Euterpe edulis</i>	ARECACEAE	X	
<i>Galinsoga parviflora</i>	ASTERACEAE		X
<i>Hevea brasiliensis</i>	EUPHORBIACEAE	X	
<i>Inga punctata</i>	MIMOSACEAE	X	
<i>Mangifera indica</i>	ANACARDIACEAE	X	
<i>Mimosa pudica</i>	MIMOSACEAE		X
<i>Mirabilida jalapa</i>	NYCTAGINACEAE		X
<i>Nectandra ambigens</i>	LAURACEAE	X	
<i>Pouteria campechiana</i>	SAPOTACEAE	X	
<i>Sapindus saponaria</i>	SAPINDACEAE	X (?)	
<i>Senna multijuga</i>	CAESALPINIACEAE		X
<i>Simarouba amara</i>	SIMAROUBACEAE	X	
<i>Theobroma grandiflorum</i>	STERCULIACEAE	X	
<i>Virola surinamensis</i>	MYRISTICACEAE	X	

mento. Existem, por exemplo, sementes que toleram desidratação (-90 a -250 MPa) mas se tornam sensíveis ao frio nessas condições.

Dentre os fatores que contribuem para redução da longevidade de uma semente incluem-se: aumento na peroxidação de lipídios (oxidação de ácidos graxos pela enzima peroxidase, à custa de peróxido de hidrogênio) e acúmulo de radicais livres, como por exemplo O_2^- e OH^- ; deterioração da membrana; e redução na atividade de enzimas responsáveis pela destoxificação. Em sementes como girassol e arroz, por exemplo, observa-se uma redução na atividade da enzima transferase da glutathione, que catalisa a conjugação da glutathione com inúmeros substratos citotóxicos, tais como os produtos de processos oxidativos desencadeados por radicais hidroxílicos. Um exemplo desses produtos são os peróxidos de lipídios de membranas.

Com a embebição, há um aumento do metabolismo e das trocas de matéria e energia com o meio externo, permitindo uma maior dissipação de entropia e, portanto, uma menor desorganização do sistema (a semente). Diversas pesquisas mostram que a longevidade de sementes hidratadas tende a ser maior do que a de sementes conservadas com baixos níveis de umidade. No ambiente natural a hidratação parcial, ou mesmo ciclos de hidratação/desidratação, podem manter um nível metabólico que permite à semente reparar os danos causados, por exemplo, pela oxidação lipídica, sem comprometer excessivamente suas reservas, já que a respiração estabiliza-se num patamar suficientemente baixo.

Além dos testes de germinação, os indicadores mais utilizados da perda de viabilidade de sementes são: redução do quociente respiratório (O_2/CO_2); aumento na permeabilidade da membrana, avaliada pelo vazamento de solutos de sementes ou tecidos em solução; decréscimo na atividade desidrogenásica, avaliada pelo teste de tetrazólio; e redução na síntese de ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos. Além desses, outros parâmetros têm sido usados, tais como: aumento na síntese de etano, que é um indicador da peroxidação de lipídios; redução da atividade beta-amilásica (relatada em arroz) e outras enzimas, tais como celulase, peroxidase, descarboxilase do ácido glutâmico; aumento na síntese de ácido abscísico; e diminuição na produção de etileno, que parece ser um indicador bastante precoce da deterioração de embriões em *Araucaria*.

DORMÊNCIA

O conceito de dormência

Uma semente não dormente (quiescente) é aquela capaz de germinar na maior amplitude possível de fatores do ambiente físico, considerando-se os limites impostos pelo seu genótipo. Algumas sementes, porém, não germinam mesmo quando colocadas em meio com disponibilidade de água, temperatura adequada e condições atmosféricas normais, sendo tais sementes denominadas *dormentes*. Uma definição recente, proposta por Baskin e Baskin (2004), considera dormente a semente incapaz de germinar, num determinado período de tempo, quando exposta a condições ambientais que normalmente permitiriam

a germinação se essa semente não estivesse dormente. Segundo Labouriau (1983), a dormência é uma alteração restritiva das condições exigidas para a germinação, induzida na semente após exposição a determinadas condições ambientais durante a maturação ou após a dispersão, alteração essa que só pode ser removida por tratamentos específicos, chamados de pós-maturação ou quebra de dormência, também de caráter indutivo. Em suma, a dormência *structusensu* representa uma modalidade de desenvolvimento que define os padrões de resposta da semente ao ambiente físico.

Portanto, a diferença básica entre uma semente dormente e uma não dormente é que na primeira existe algum tipo de bloqueio interno à germinação, independente das condições ambientais, enquanto na quiescente a germinação é limitada pela ausência ou insuficiência de um ou mais fatores externos necessários para que esse processo ocorra. Esse bloqueio pode ser causado por uma alteração — induzida por fatores ambientais e/ou maternos — das condições exigidas para que a germinação ocorra. Assim, algumas modalidades de dormência podem se expressar pela faixa de sensibilidade da semente a determinados fatores ou conjunto de fatores ambientais. No caso da temperatura, por exemplo, a germinação ocorre desde que a temperatura ambiente (T) esteja situada entre T_b e T_M (ver item *Temperatura*), isto é, quando $T_b \leq T \leq T_M$. Quanto maior a dormência, mais estreita a amplitude térmica na qual ela germina (“janela” térmica), ou seja, menor a diferença entre T_b e T_M , até a condição de dormência total ou absoluta, quando T_b tende a se igualar a T_M . Do mesmo modo, quanto menor a dormência, maior o intervalo de temperaturas no qual a semente pode germinar.

Um modelo das relações entre indução e quebra de dormência fisiológica (ver adiante), baseado em estudos realizados com *Arabidopsis*, é apresentado na Fig. 20.12. Condições ambientais específicas podem induzir tanto o estabelecimento como a quebra (ou interrupção) da dormência, por intermédio de reações mediadas por hormônios vegetais. No caso da quebra, por exemplo, um maior valor da relação AG:ABA favorecerá a cadeia de transdução de sinais disparada pela giberelina, que, por sua vez, poderia causar por exemplo uma ampliação da janela térmica e/ou uma redução do Ψ_b . Essa variação de parâmetros endógenos da semente possibilitaria que ela germinasse num leque maior de condições do ambiente físico. Por outro lado, no caso da indução da dormência, um aumento da síntese e da sensibilidade do tecido ao ABA, associado a uma maior degradação de AG, potencializaria as reações de transdução de sinais pelo ABA que poderiam acarretar a elevação do valor de Ψ_b e/ou reduzir a amplitude térmica de germinação, permitindo desse modo que a germinação ocorresse apenas em condições ambientais muito restritas ou simplesmente impossibilitando a germinação em qualquer condição.

Considerando-se os conceitos acima, como é possível saber se a ausência de germinação numa dada temperatura, por exemplo, é um caso de dormência ou quiescência? Supondo-se que uma semente viável não germine à temperatura de 35°C , mas o faça quando tratada com um fitorregulador ou submetida a estratificação, pode-se dizer que a semente estava dormente e os trata-

mentos reduziram sua dormência, capacitando-a a germinar àquela temperatura. Uma semente não dormente não germinaria mesmo após esses tratamentos de quebra de dormência.

Classificação da dormência

Quanto à sua origem, a dormência é geralmente classificada como: a) primária ou inata, que já se encontra instalada na semente ao final da maturação na planta-mãe, e b) secundária ou induzida, quando se instala em sementes maduras após a dispersão. A dormência secundária, em geral, surge quando a semente encontra uma situação de estresse ambiental, como, por exemplo, baixos níveis de oxigênio, temperaturas elevadas, baixos potenciais hídricos, teores elevados de CO_2 ou luz rica em vermelho extremo. Assim, uma semente quiescente pode tornar-se dormente e vice-versa — na modalidade conhecida como dormência cíclica — dependendo respectivamente de fatores ambientais de indução e “quebra” de dormência (Fig. 20.13).

Em relação aos mecanismos envolvidos, a dormência também pode ser classificada nas seguintes classes:

DORMÊNCIA FISIOLÓGICA (DF)

É causada por mecanismos inibitórios envolvendo processos metabólicos e o controle do desenvolvimento na semente. Na DF operam diversos mecanismos, localizados não só no embrião propriamente dito, como também nos tecidos e estruturas adjacentes, especialmente o endosperma. Pesquisas recentes sugerem que diversas modalidades de DF resultam da interação entre o potencial de crescimento do embrião e as restrições impostas pelos tecidos que o envolvem. Alterações nesse potencial podem envolver mudanças na sensibilidade de tecidos do embrião a subs-

tâncias inibidoras e/ou a expressão de enzimas capazes de hidrolisar as paredes celulares do endosperma (ver *Controle da germinação*). Em *Arabidopsis thaliana* a remoção do tegumento permite a germinação, tanto de mutantes com elevado grau de dormência como deficientes em giberelinas, indicando a importância da testa na restrição da emergência da radícula.

Dentro da DF, costuma-se distinguir dois níveis principais: *não-profundo* ou de curta duração e *profundo*. No nível não-profundo o embrião cresce e produz plântulas normais quando isolado do restante da semente, enquanto na dormência profunda o embrião não se desenvolve mesmo quando isolado. A dormência profunda, freqüentemente encontrada em espécies arbóreas de regiões temperadas, não responde a tratamento com AG e pode ser quebrada por longos períodos de estratificação. No nível não-profundo, o controle da dormência situa-se fundamentalmente no embrião, mas existe uma interação com os tecidos adjacentes, particularmente o endosperma. Tratamentos com AG podem quebrar esse tipo de dormência, assim como tratamentos de escarificação, armazenamento a seco e estratificação (ver *Quebra da dormência*).

A dormência relacionada à luz é muitas vezes tratada como um tipo particular, já que a não-germinação resulta inicialmente de uma condição ambiental inadequada ao crescimento do embrião (o que cairia no conceito de quiescência). Entretanto, como a luz, através do fitocromo, pode causar alterações no requerimento de condições ambientais específicas pela semente, esse fator pode ser responsável por um tipo de dormência fisiológica. Um exemplo do controle da dormência pela luz é verificado em sementes de algumas plantas daninhas que, uma vez enterradas, permanecem dormentes até receberem um breve estímulo luminoso, tornando-se quiescentes e germinando em condições adequadas de água e temperatura. Sementes de *Datura ferox*, uma daninha de climas

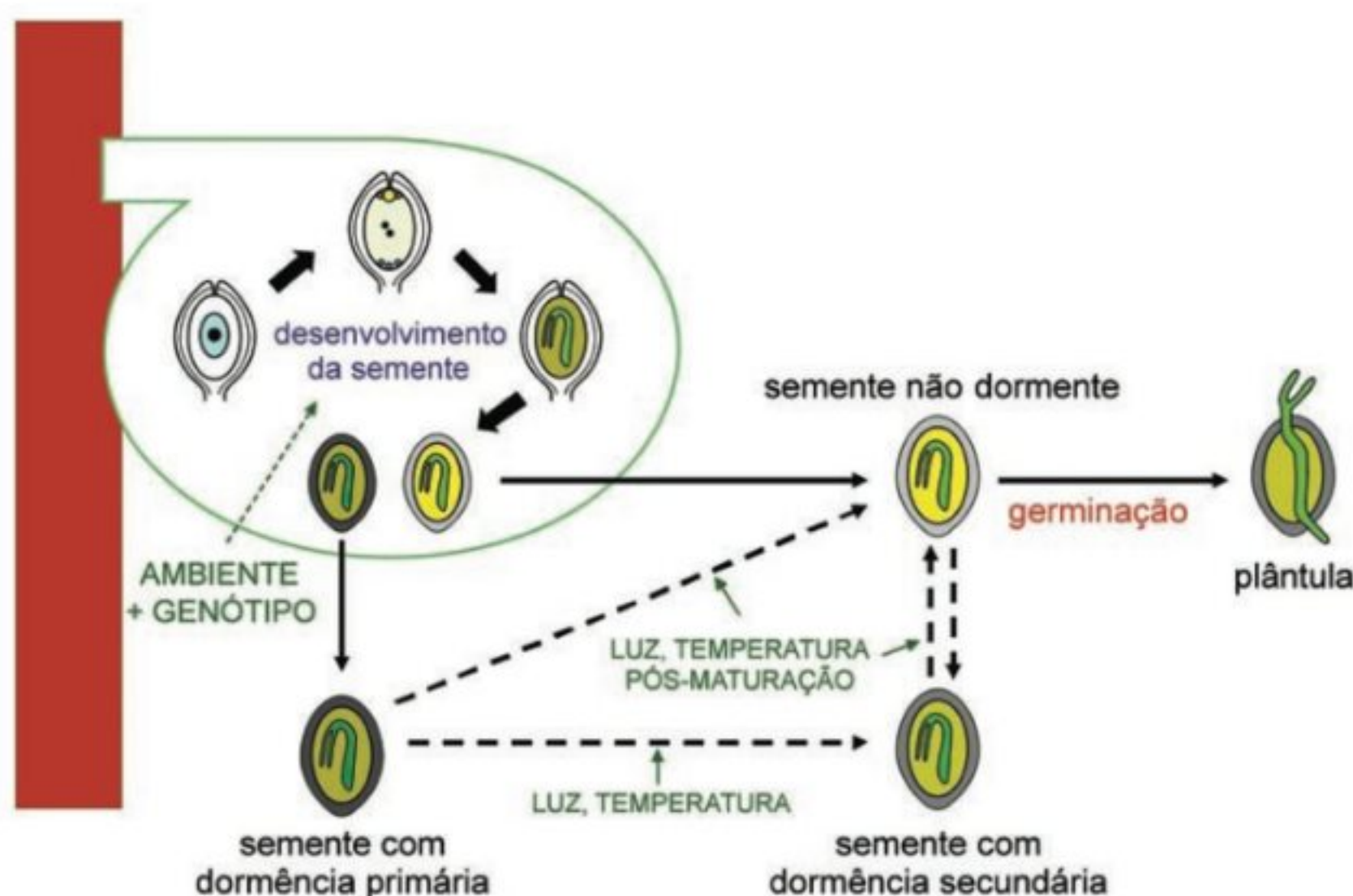


FIGURA 20.13

Eventos e fatores associados à transição entre os estados de dormência e não dormência em sementes. (Kermode, 2005.)

temperados e subtropicais da América do Sul, são produzidas no verão e outono e permanecem dormentes quando deixadas sobre a superfície ou enterradas, mas adquirem a capacidade de germinar quando sementes enterradas são expostas à luz, o que normalmente ocorre durante o cultivo do solo. Assim, o soterramento induz na semente uma maior sensibilidade a irradiâncias muito baixas, provavelmente numa reação mediada pelo fitocromo A. Em espécies tropicais pioneiras, é comum a dormência causada pela luz, como em *Cecropia glaziovii*, *Piper arietinum* e *Miconia cinnamomifolia*, devido a baixas razões V/VE no meio.

Um problema central em relação à dormência fisiológica é a identificação do fator (ou fatores) responsável pelo bloqueio do crescimento da radícula, considerando-se que os eventos celulares e metabólicos que ocorrem antes do início do crescimento são comuns em sementes dormentes e não dormentes. Até o momento, nenhum gene em particular pode ser destacado como responsável pela incapacidade de crescer do embrião dormente, sendo que muitas pesquisas vêm sendo feitas visando à identificação de tais “genes de dormência”.

DORMÊNCIA MORFOLÓGICA

Refere-se à semente que é dispersa com o embrião não-diferenciado (estágio de pré-embrião), ou não completamente desenvolvido (estágio de “torpedo” ou linear). Desse modo, o embrião deverá passar por um período de maturação na semente separada da planta-mãe, até adquirir condição de germinar. Em espécies tropicais, esse crescimento do embrião é praticamente contínuo no ambiente natural, ficando muitas vezes difícil separar os processos de quebra da dormência e de germinação propriamente dita. Esse desenvolvimento pós-dispersão é afetado pelas condições ambientais, principalmente temperatura, umidade e luz. *Heracleum sphondylium*, por exemplo, requer um período de baixas temperaturas, enquanto *Elaeis guineensis* necessita de temperaturas na faixa de 35-40°C. Outros exemplos de espécies com esse tipo de dormência são *Virola surinamensis* e *Ilex paraguariensis*.

DORMÊNCIA MORFOFISIOLÓGICA

Nesta modalidade, a semente apresenta ambas as classes de dormência mencionadas anteriormente. O embrião deve alcançar um determinado tamanho crítico, e a DF deve ser quebrada por estratificação ou outro tratamento. Em algumas espécies a DF precisa ser quebrada antes de o embrião retomar seu desenvolvimento, enquanto em outras ambos os processos (quebra de dormência fisiológica e crescimento do embrião) ocorrem ao mesmo tempo. Sementes de *Annona crassiflora* (Rizzini, 1973) provavelmente se enquadram nessa categoria.

DORMÊNCIA FÍSICA

Este é um tipo particular de dormência é causado pela impermeabilidade dos envoltórios da semente e/ou do fruto, restringindo total ou parcialmente a difusão de água ao embrião. É possível ainda que tegumentos e envoltórios da semente possam também

restringir a difusão de oxigênio para o interior da semente, como deve ser o caso de sementes de *Serenoa repens* (Arecaceae) e *Brachiaria brizantha* (braquiarião). Em Fabaceae a resistência à entrada de água é conferida pela testa, que apresenta uma camada de células paliçádicas com paredes secundárias grossas e lignificadas (esclereídeos), impregnadas com substâncias de natureza hidrofóbica, tais como lipídios, suberina, cutina, substâncias pécticas e lignina. O tegumento pode também conter uma mucilagem que se expande na presença de água, formando uma barreira à difusão de oxigênio e diminuindo a velocidade de germinação.

Trata-se de uma das modalidades de dormência mais comumente citadas em espécies tropicais, como *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Erithrina speciosa*, *Mimosa scabrella* e *Senna multi-juga*.

DORMÊNCIA QUÍMICA

Inicialmente, enquadrava-se nesta classe a dormência causada por inibidores de crescimento presentes no pericarpo. A definição foi posteriormente estendida para substâncias produzidas tanto no fruto como na própria semente e que, translocadas para o embrião, inibem seu crescimento. Aquênios de *Bidens pilosa* (picão-preto), por exemplo, germinam melhor quando submetidos a lavagem com água corrente, sugerindo a presença de inibidores no aquênio. No caso do picão, entretanto, é possível que tais inibidores atuem reduzindo, via oxidação, a disponibilidade de oxigênio ao embrião. Inibidores têm sido detectados — principalmente por intermédio de bioensaios — tanto no fruto como na semente, embora seu papel no controle endógeno da germinação raramente fique estabelecido. Em *Rosa rugosa*, a lixívia de aquênios dormentes inibe a germinação de embriões isolados de sementes dormentes (dormência fisiológica) dessa espécie, mas não é capaz de inibir a germinação de embriões não dormentes, ou seja, nesse caso a dormência química manifesta-se apenas na presença de dormência fisiológica. Portanto, a expressão “dormência química” deve ser aplicada apenas às espécies cujas sementes não apresentam dormência fisiológica.

A presença de inibidores químicos (especialmente compostos fenólicos) no pericarpo, na testa ou no próprio embrião foi detectada, entre outras, em *Chorisia speciosa*, *Copaifera langsdorffii*, *Myroxylon peruiferum* e *Amburana cearensis*.

Quebra da dormência

Diferentes procedimentos podem ser usados para interromper a dormência em ensaios de laboratório, destacando-se que cada espécie deve ter um protocolo específico baseado em suas características morfológicas e/ou fisiológicas da semente.

Alguns dos procedimentos comumente usados são mencionados brevemente abaixo.

- a) *Estratificação*: consiste no tratamento da semente hidratada com uma temperatura baixa (entre 4°C e 6°C). Em geral, a semente é mantida num substrato úmido que permita um

bom arejamento. Tem sido usada para casos de dormência fisiológica (DF) ou morfológica (DM).

- b) Alternância de temperatura: sementes hidratadas são submetidas a um regime de trocas de temperatura, em geral alternando-se uma temperatura na faixa de 30°C com outra, 10 ou 15 graus abaixo, por exemplo, 8 h a 30°C e 16 h a 20°C. O número de ciclos necessários depende da semente.
- c) Pós-maturação a seco: armazenam-se sementes não hidratadas, por um período de tempo variável (pode variar de alguns dias a vários meses) em temperaturas relativamente elevadas, na faixa de 40 a 60°C. Algumas espécies requerem um tratamento curto, de poucas horas, em temperaturas elevadas (50–70°C).
- d) Tratamento químico: consiste na embebição da semente em solução de fitorreguladores, principalmente giberelinas, ou nitrato.
- e) *Escarificação*: usado principalmente nos casos de dormência física, consiste em submeter a semente a algum tratamento que facilite a difusão de água ou gases para no seu interior. A escarificação pode ser feita por abrasão (por exemplo, lixamento do tegumento duro), perfuração, imersão em substâncias corrosivas (como o ácido sulfúrico concentrado), imersão em solventes orgânicos e imersão em água fervente, entre outros.
- f) *Lixiviação*: consiste em manter as sementes imersas num recipiente com água ou, o que é mais comum, em água corrente, durante um determinado tempo, variável de acordo com o material. É um método recomendado para casos de dormência química.

Na natureza, diversos fatores, tanto bióticos quanto abióticos, podem contribuir para a quebra de dormência em sementes. Alterações na cobertura vegetal, por exemplo, podem modificar a qualidade da luz, eventualmente levando à quebra de dormência causada pela luz em sementes depositadas sobre a superfície do solo. A amplitude das flutuações térmicas, especialmente na superfície do solo, pode interferir nas propriedades físicas do tegumento duro de algumas sementes, diminuindo sua resistência à difusão de fluidos. Escarificação natural também pode ser realizada por insetos e microrganismos presentes no solo, bem como por aves e mamíferos por intermédio da ingestão e passagem da semente pelo trato digestivo do animal. A chuva, por sua vez, pode ajudar a remover substâncias inibidoras presentes nos envoltórios da semente, contribuindo assim para a quebra de dormência química.

Temperaturas altas também podem quebrar a dormência em ambientes sujeitos a queimadas periódicas. O fogo pode constituir-se num importante fator de interrupção da dormência causada por tegumentos rígidos, mas seu efeito dependerá da intensidade e duração do estímulo térmico, pois em geral o contato direto com a chama causa a morte da semente. Um exemplo sobre a ação do fogo sobre a germinação ocorre em sementes de braca-tinga (*Mimosa scabrella*).

REFERÊNCIAS

- Aguiar IB, Piña-Rodrigues FCM e Figliolia MB. *Sementes Florestais Tropicais*. Brasília, ABRATES, 1993.
- Baskin JM, Baskin CC. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 2004; 14:1-6.
- Bewley JD. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 1997; 9:1055-1066.
- Bradford KJ. Water stress and the water relations of seed development: a critical review. *Crop Science*, 1994; 34:1-11.
- Bradford KJ et al. Gene expression prior to radicle emergence in imbibed tomato seeds. In: Black M, Bradford KJ e Vazquez-Ramos J. (eds.) *Seed Biology: Advances and Applications*, Wallingford, CABI, 2000.
- Cardoso VJM. Germinação e fotoblastismo de sementes de *Cucumis anguria*: influência da qualidade da luz durante a secagem. *Revista Brasileira de Fisiol. Vegetal*, 1995; 7(1):75-80.
- Donohue K. Seeds and seasons: interpreting germination timing in the field. *Seed Science and Research*, 2005; 15:175-187.
- Figueiredo PS e Pereira MFA. Immature seeds of *Phaseolus vulgaris* L: development, germination and reproductive capacity of the resulting plants. *Revista Brasileira de Botânica*, 1985; 8:169-175.
- Finch-Savage WE e Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 2006; 171:501-523.
- Jiao Y et al. Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nature Reviews-Genetics*, 2007; 8:217-230.
- Kermode AR. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: Kigel J e Galili G. (eds.) *Seed Development and Germination*, New York, Marcel Dekker Inc., 1995.
- Kermode AR. Role of abscisic acid in seed dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2005; 24:319-344.
- Kucera B et al. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 2005; 15:281-307.
- Labouriau LG. *A Germinação das Sementes*. Secretaria Geral da OEA, Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Washington, 1983.
- Muller K et al. Endosperm limited Brassicaceae seed germination. Abscisic acid inhibits embryo-induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* and endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 2006; 47:864-877.
- Oliver A, Crowe LM e Crowe JH. Methods for dehydration-tolerance: depression of the phase transition temperature in dry membranes and carbohydrate vitrification. *Seed Science Research*, 1998; 8:211-221.
- Rizzini CT. Dormancy in seed of *Annona crassiflora*. *Journal of Experimental Botany*, 1973; 24:117-123.
- Silva EAA et al. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica*) seed germination. *Planta*, 2004; 220:251-261.
- Takei K, Ueda N, Aoki K et al. *AtIPT3* is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2004; 45:1053-1062.
- Valio IFM e Scarpa. Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasileira de Botânica*, 2001; 24(1):79-84.
- Vazquez-Yanes et al. Seed ecology at the northern limit of the tropical rain forest in America. In: Black M, Bradford KJ e Vazquez-Ramos J. (eds.) *Seed Biology: Advances and Applications*, Wallingford, CABI, 2000.
- Vieira AH et al. Técnicas de produção de sementes florestais. *Boletim Embrapa/CPAFRO*, 2001; 205:1-4.

Weber H *et al.* Molecular physiology of legume seed development. *Annual Review of Plant Biology*, 2005; 56:253-279.

Ferreira AG e Borghetti F. (orgs.) *Germinação: do Básico ao Aplicado*, Porto Alegre, ArtMed, 2004.

Kigel J e Galili G. (eds.) *Seed Development and Germination*, New York, Marcel Dekker Inc., 1995.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

Baskin CC e Baskin JM. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego, Academic Press, 1998.

Black M, Bradford KJ e Vazquez-Ramos J. (eds.) *Seed Biology: Advances and Applications*, Wallingford, CABI, 2000.

Tuberização

Rita de Cássia Leone Figueiredo-Ribeiro, Edison Paulo Chu e
Vilma Palazetti de Almeida

INTRODUÇÃO

Numerosas espécies vegetais apresentam alguns de seus órgãos desempenhando mais de uma função em determinadas fases de seu ciclo de vida. É o caso de raízes, caules ou folhas que, em dado momento do ciclo de desenvolvimento das plantas, reduzem seu crescimento em extensão e passam a acumular substâncias de reserva, geralmente de natureza glicídica, ocorrendo uma hipertrofia radial do órgão. Dependendo de sua origem, o órgão de reserva pode receber designações diversas, como tubérculo, cormo, pseudobulbo, rizóforo e rizoma, quando originado do caule, ou então bulbo e raiz tuberosa, quando formado a partir de uma estrutura de natureza foliar ou radicular, respectivamente.

O tubérculo de batata inglesa (*Solanum tuberosum*) é um exemplo de caule modificado, com nós, entrenós e com um eixo muito curto e espessado, no qual ocorre acúmulo de amido em plastídeos especiais, os amiloplastos. Em tulipa (*Tulipa* sp.), o bulbo consiste em uma base não muito desenvolvida e maciça, denominada prato, que apresenta um botão vegetativo e catáfilos que armazenam substâncias nutritivas e protegem a gema e as raízes desenvolvidas na parte inferior dessa estrutura. Em outras espécies, como *Begonia evasiana*, *Sinningia allagophylla* e *Solanum tuberosum*, as gemas axilares presentes em estacas com folhas também podem tuberizar se forem enterradas, reproduzindo as plantas de origem.

A indução de tuberização, a iniciação e o desenvolvimento de órgãos espessados, seguidos de dormência e brotação, são etapas do ciclo de vida típico das plantas que possuem órgãos tuberosos, os quais estão diretamente relacionados com a sobrevivência e a reprodução vegetativa das espécies que os possuem. Neste particular, a multiplicação vegetativa tem aspectos comuns com

a reprodução sexuada, na qual a floração é o processo primário e vital (Suárez-Lopes, 2005).

Plantas que possuem órgãos de reserva são geralmente herbáceas e perenes, e sua parte aérea senesce ao final do período anual de crescimento, permanecendo apenas o órgão subterrâneo espessado. Após um período de dormência variável, esses órgãos podem rebrotar através do desenvolvimento de suas gemas e utilização das reservas acumuladas, assegurando um novo período de crescimento. Assim, os órgãos espessados são importantes na propagação vegetativa, pois protegem as gemas das condições desfavoráveis às quais a parte aérea está mais sujeita. Fatores ambientais e endógenos controlam esse processo.

O processo de formação de órgãos de reserva não foi totalmente elucidado até o momento; sabe-se, entretanto, que ocorrem modificações morfológicas e bioquímicas drásticas nas plantas, capazes de iniciar a formação dessas estruturas. Pela importância econômica, *S. tuberosum* tem sido utilizada como material clássico para o estudo do processo de tuberização. Podem ser reconhecidas três etapas no desenvolvimento desses tubérculos: (a) a indução da tuberização, sem modificações morfológicas; (b) a iniciação da tuberização, marcada pela parada de crescimento do estolão e intumescimento radial da região subapical deste, devido ao alongamento celular e divisões celulares; e (c) o aumento do tubérculo, caracterizado pelo acúmulo de substâncias de reserva, incluindo a patatina, uma glicoproteína que tem sido utilizada como indicador bioquímico de tuberização nessa espécie. No bulbo da cebola (*Allium cepa*), apesar de ser de origem diferente, ocorrem as mesmas etapas na formação do órgão de reserva. Neste capítulo será utilizado indiscriminadamente o termo tuberização para designar a formação dos diferentes tipos de órgãos subterrâneos de reserva.

CONTROLE DA INICIAÇÃO DA TUBERIZAÇÃO

O processo de tuberação é influenciado por fatores ambientais e endógenos, podendo ser favorecido por noites longas (fotoperíodos curtos), temperaturas baixas e níveis baixos de nitrogênio, entre outros (Fig. 21.1).

Fatores ambientais

Semelhantemente a outros processos de organogênese, a formação de tubérculos e de outros órgãos de reserva pode ser controlada por fatores ambientais, como fotoperíodo, luz e temperatura. Garner e Allard (1923) foram os primeiros a observar que o fotoperíodo controla a formação de tubérculos em batata. Nessa espécie, noites longas favorecem a indução da tuberação; portanto, nesse processo, a batata é considerada uma planta de dias curtos. Quando em condições de fotoperíodo longo, ocorre um atraso na tuberação, havendo maior crescimento das porções aéreas e dos estolões dessa espécie, que ficam mais numerosos e ramificados.

Experimentos com fotoperíodo e enxertia intra-específica em *S. tuberosum* sugeriram que a indução da tuberação estaria relacionada a um estímulo produzido pelas folhas. Quando folhas de uma planta doadora exposta a fotoperíodo curto eram

enxertadas em uma planta receptora, mantida em fotoperíodo longo, que é uma condição não-indutiva, ocorria tuberação. No processo de tuberação de batata, foi observado que: (a) um grupo de folhas já expandidas pode ser a fonte de indução para um grupo de estolões; e (b) estolões apresentam idades diversas e diferentes níveis de sensibilidade aos hormônios, ocorrendo síntese de giberelinas em diferentes períodos, os quais são traduzidos como diferentes tempos de indução de tuberação.

O estímulo da tuberação ocorre também em enxertias interespecíficas. Plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), cuja floração é controlada pelo fotoperíodo, foram utilizadas para comprovar o efeito do fotoperíodo na tuberação de enxertos de batata (*Solanum tuberosum*). Se a planta de tabaco, que requeria dias curtos para florescer, fosse exposta a fotoperíodo longo e suas folhas eram enxertadas em batata, mantida em condições não-indutoras de tuberação, ocorria indução do processo de tuberação nos enxertos de batata. Outra variedade de tabaco que requeria fotoperíodos longos para florescer (*Nicotiana sylvestris*) era capaz de induzir a tuberação em enxertos de batata se as folhas de tabaco fossem expostas a fotoperíodos longos. Como resultado, enxertos de tabaco em condições indutoras de floração foram favoráveis à indução de tuberação em batata, claramente indicando haver um mesmo estímulo translocável para ambos os processos, o qual não é espécie-específico.

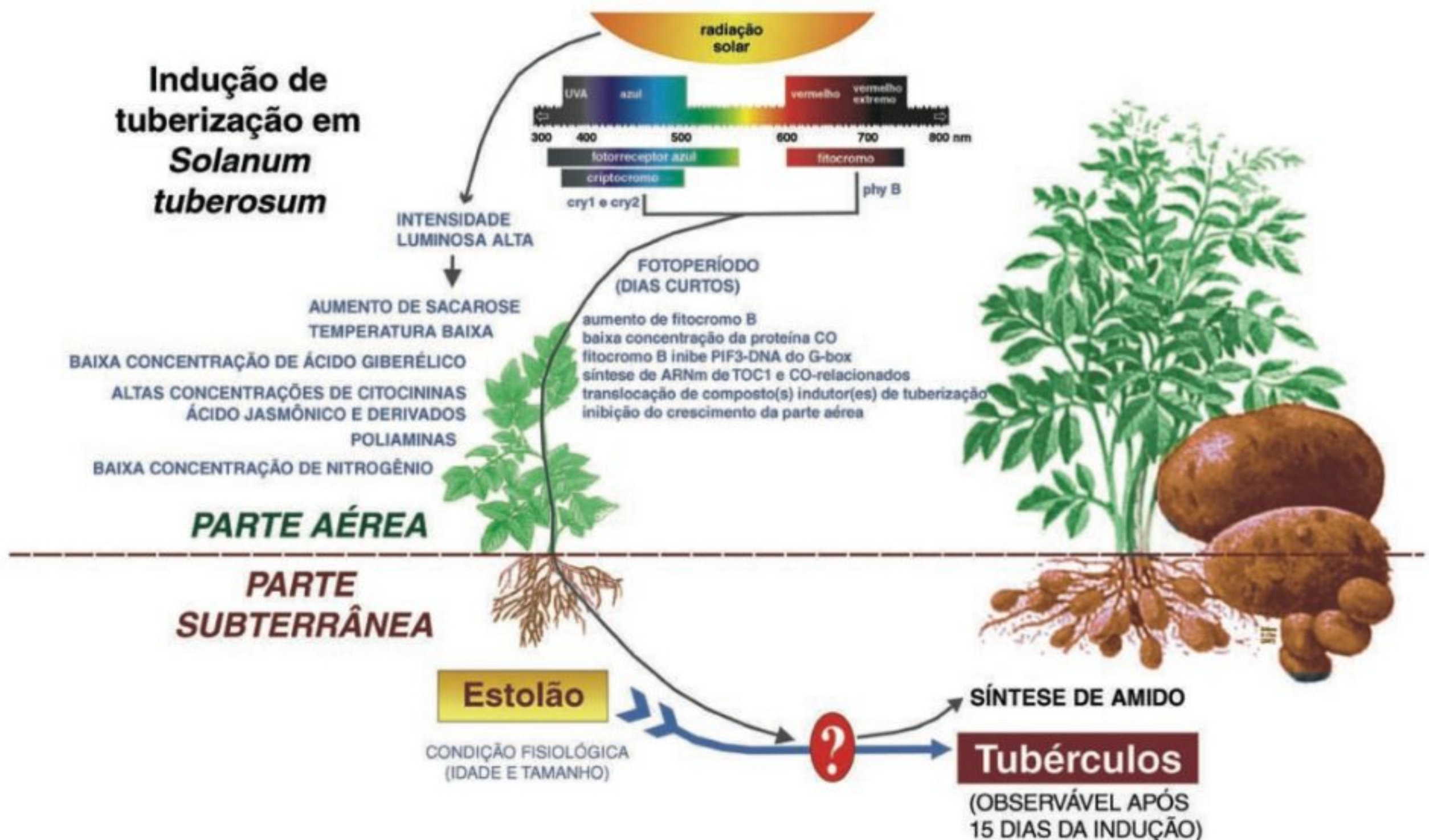


FIGURA 21.1

Fatores ambientais e possíveis moléculas sinalizadoras que afetam a indução de tuberação de batata (*Solanum tuberosum*). Pormenores da ação gênica dos fitocromos estão descritos em Suárez-Lopes (2005).

O controle fotoperiódico da formação de órgãos de reserva engloba todos os aspectos do fotoperiodismo. A folha é o sítio receptivo; um ou mais estímulos produzidos pelas folhas são translocados para as regiões de resposta; o comprimento da noite determina a resposta, e o fitocromo é o pigmento fotorreceptor (ver Cap. 17, Ritmos Circadianos nas Plantas). A fotorreversibilidade vermelho-vermelho extremo também foi comprovada em *S. tuberosum*, uma vez que a interrupção do período escuro por 5 minutos de luz vermelha reduz a tuberização, enquanto a luz vermelha extrema reverte o efeito da luz vermelha. Com o uso crescente de técnicas de DNA recombinante e produção de plantas transgênicas, foi possível demonstrar, em *S. tuberosum* spp. *andigena*, que na ausência ou sob níveis reduzidos de fitocromo B os criptocromos (flavoproteínas receptoras de luz azul), na forma ativa, induzem a tuberização nessa variedade de batata, tanto em dias curtos como em dias longos. Em plantas selvagens, somente dias curtos com 8 horas de luz e 16 horas de escuro promoveram o processo (Fig. 21.1).

Além da batata, plantas de *Begonia* sp., *Dahlia* sp., *Helianthus tuberosus*, *Phaseolus multiflorus*, *Phaseolus coccinius*, *Gladiolus* sp., *Oxalis* sp. e várias outras espécies nativas (Figs. 21.2 e 21.3) têm a formação de tubérculos estimulada por dias curtos. Entretanto, existem espécies do gênero *Allium*, como cebola, cebolinha e alho, que acumulam reservas em fotoperíodos longos. Embora a natu-

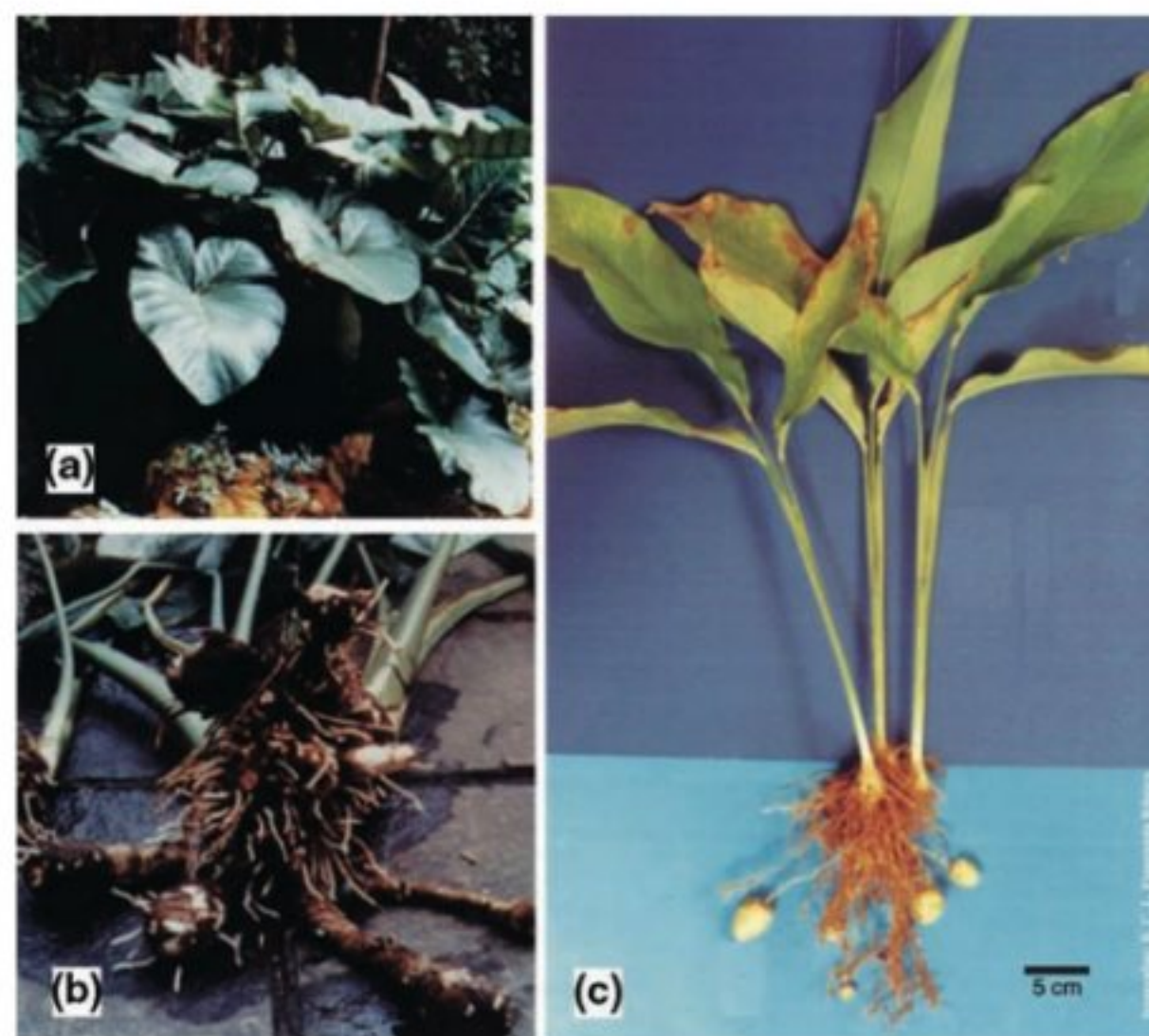


FIGURA 21.3

Outras plantas tuberosas tropicais amiláceas: (a) parte aérea de taioba, *Xanthosoma sagittifolium*; (b) órgão subterrâneo de reserva de taioba, utilizado na alimentação; (c) ariá (*Calathea allouia*) e suas raízes tuberosas.

reza precisa do sinal ainda não seja conhecida, há fortes evidências de que o fitocromo B esteja envolvido na expressão do gene *Constan* (CO) nas folhas, o qual é responsável pela produção de uma proteína nuclear, em cuja presença não ocorre a tuberização (Fig. 21.1). O fitocromo A, que é um fator controlador do ritmo circadiano, também impede a formação de tubérculos em batatas transgênicas sob condições não-indutoras, evidenciando que a ação conjunta dos fitocromos A e B está envolvida na repressão da indução de tuberização.

A temperatura também influencia os níveis de indução de tuberização. *Solanum tuberosum* e *Helianthus tuberosus* são espécies que necessitam de temperaturas baixas para tuberizar. Em batata, a temperatura ótima de tuberização é cerca de 17°C, e temperaturas superiores a 30°C são inibitórias desse processo. Mesmo em espécies tropicais, como *Pachyrrhizus tuberosus*, que tuberizam em fotoperíodos curtos (abaixo de 16 horas), regimes alternados de altas temperaturas em fotoperíodo indutivo (30°C/25°C) inibem a formação de raízes tuberosas. Entretanto, temperaturas elevadas são favoráveis à tuberização de algumas espécies que formam seus órgãos tuberosos em dias longos, como cebola, alho e cebolinha.

O efeito do fotoperíodo e da temperatura na indução da tuberização depende da irradiância sob a qual a planta está crescendo. Respostas inibitórias de tuberização em *S. tuberosum* estimuladas por fotoperíodos longos e temperaturas altas são exacerbadas sob níveis baixos de irradiância.

Um terceiro fator ambiental que afeta a indução da tuberização é a quantidade de nitrogênio disponível para a planta. Se, por um lado, níveis altos de nitrogênio presentes no solo reduzem



FIGURA 21.2

Plantas tuberosas amiláceas subutilizadas e com alto potencial alimentício e farmacêutico: (a) bulbilho aéreo de *Dioscorea bulbifera* (cará alado); (b) tubérculo de *Dioscorea olfersiana* (cará) originária de Mata Atlântica; (c) plantas de *Dioscorea delicata* (cará) da Mata Atlântica.

a tuberação, temperaturas baixas podem inibir a absorção de nitrogênio, promovendo indiretamente a tuberação. Em solução hidropônica, mesmo sob fotoperíodo curto, a tuberação de *S. tuberosum* pode ser evitada pelo suprimento contínuo de amônia, ou promovida se o suprimento de nitrogênio for interrompido (ver Cap. 6, Transporte no Floema). Em *Vernonia herbacea*, uma espécie de Asteraceae do cerrado brasileiro (Fig. 21.4), aplicações de nitrogênio estimularam a produção dos rizóforos no campo aumentando, conseqüentemente, o rendimento das inulinas, que é o polissacarídeo de reserva acumulado nesses órgãos subterrâneos (Carvalho *et al.*, 2007).

Algumas espécies são indiferentes quanto ao fotoperíodo para a formação dos órgãos de reserva, como ocorre em yacón (*Polymnia sonchifolia* = *Smalanthus sonchifolius*), em que há o desenvolvimento da parte aérea por 6–7 meses, floração e intensificação do crescimento da raiz tuberosa com acúmulo de frutanos, seguindo-se a senescência da parte aérea após 10–12 meses no ciclo anual de desenvolvimento (Fig. 21.5). Em *Costus arabicus* (Fig. 21.6), os rizomas amiláceos desenvolvem-se e multiplicam-se rapidamente, originando novas hastes que florescem preferencialmente em dias mais longos, isto é, com mais de 16 horas de luz (V.R. Santos e L.B.P. Zaidan, 2007 — comunicação pessoal).

Fatores endógenos

Muitas das informações obtidas estudando-se a relação entre os fatores ambientais e a tuberação sugerem haver um controle hormonal desse processo. Experimentos com estacas de batata indicaram que, provavelmente, um hormônio produzido pelas

folhas e translocado pela estaca induziria modificações morfológicas e fisiológicas que resultariam em uma planta tuberosa.

Dentre os hormônios vegetais, giberelinas (AG) têm sido indicadas como controladoras da tuberação, uma vez que condições ambientais que promovem esse processo causam decréscimo da atividade giberelínica em caules (ver Cap. 11, Giberelinas). Altas temperaturas estimulam a produção de giberelinas em gemas caulinares mais do que em folhas, o que poderia estar relacionado à inibição de tuberação causada por temperaturas altas. A retirada das gemas diminui o efeito inibitório da temperatura alta na tuberação.

Baixa irradiância tende a inibir a tuberação e aumentar a atividade giberelínica em folhas, mesmo quando estas são expostas a fotoperíodos curtos. Além de inibirem a tuberação de batata, fotoperíodos longos, temperaturas altas e irradiância baixa produzem efeitos sobre a morfologia do caule, os quais coincidem com os efeitos conhecidos das giberelinas. Quando vistas em conjunto, características relacionadas com a senescência, tais como folhas mais largas e finas, botões florais abortados, supressão de crescimento do caule, inibição do crescimento de ramos axilares, diminuição dos níveis de clorofila e antocianinas, sugerem que a redução dos níveis de giberelinas pode ser a causa das respostas adaptativas do crescimento de tubérculos em plantas de batata. Aplicações de AG são efetivas na inibição da tuberação, mimetizando os efeitos de condições ambientais não-indutivas. Os níveis de patatina, indicador bioquímico da tuberação, diminuem em estacas tratadas com AG₃, e tratamentos com cloreto de 2-cloroetila trimetilamônia (CCC), que bloqueia a síntese de AG, estimulam a formação de tubér-

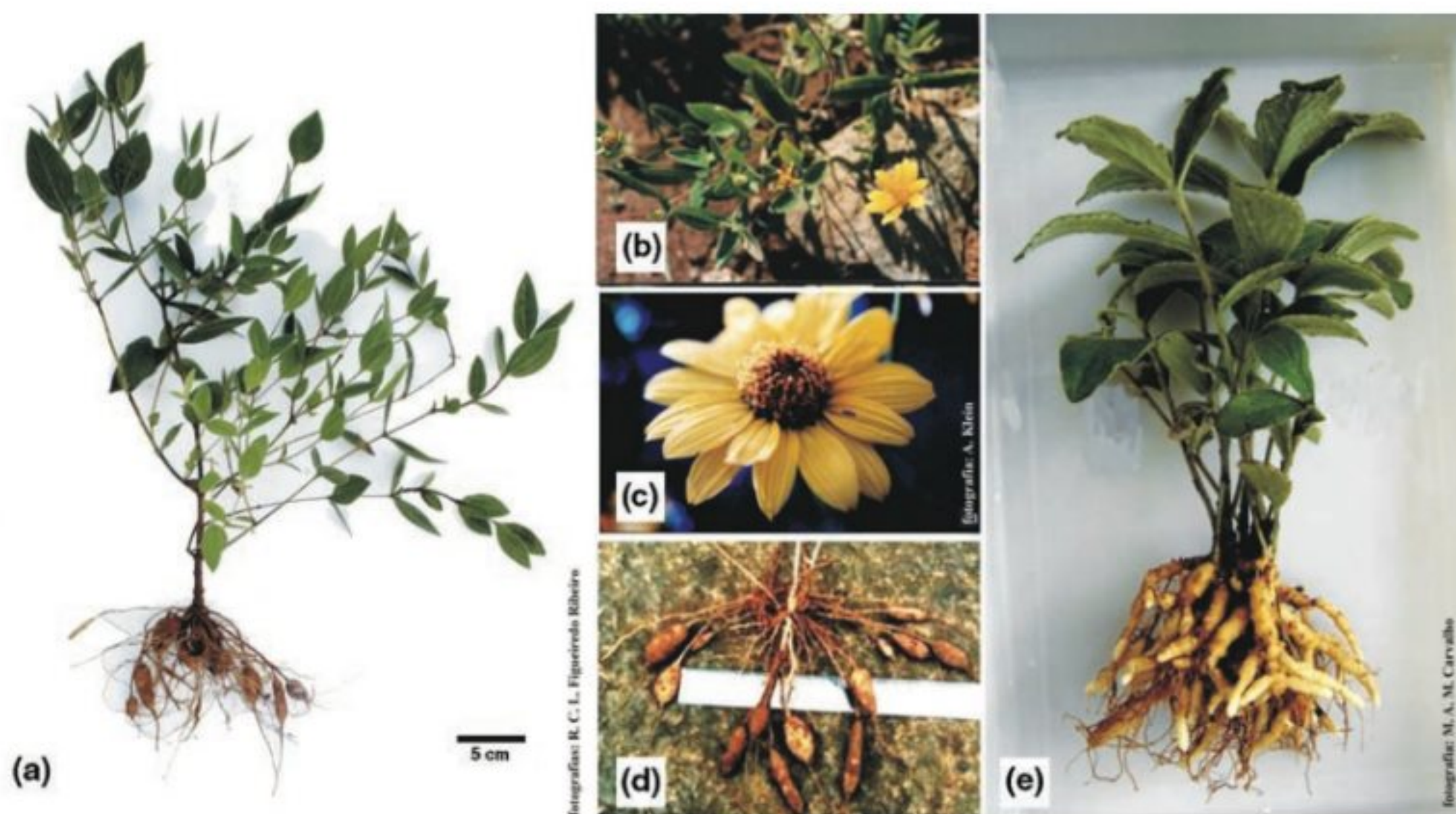


FIGURA 21.4

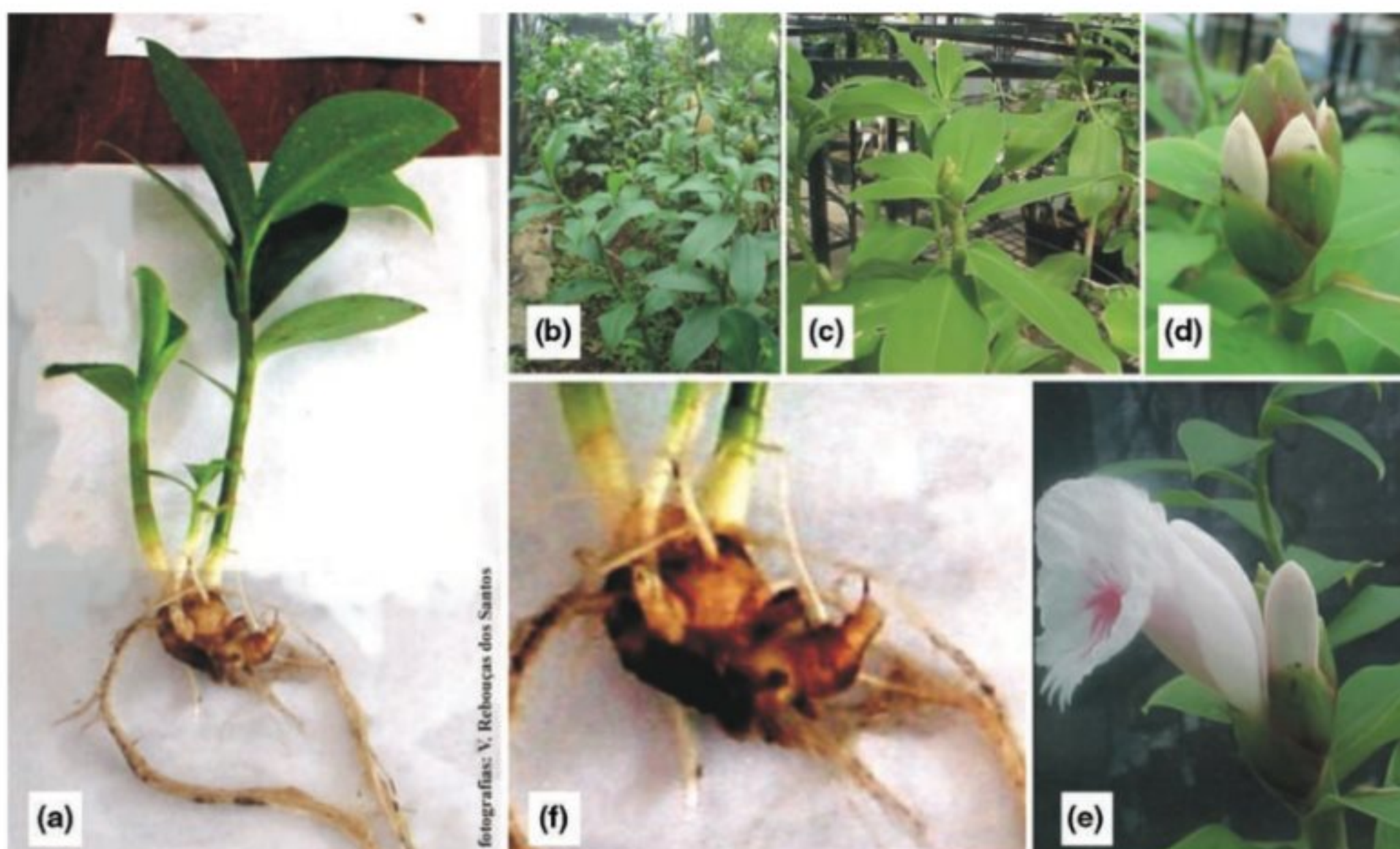
Plantas do cerrado brasileiro ricas em polímeros de frutose (inulina): (a) planta de *Viguiera discolor* com xilopódio e raízes tuberosas, (b) vegetando em condições naturais, com destaque (c) para a inflorescência amarela e (d) para as raízes tuberosas; (e) planta de *Vernonia herbacea* com destaque para os órgãos subterrâneos de reserva (rizóforos).

**FIGURA 21.5**

Plantas de *Smalanthus sonchifolius* (yacón), com raízes tuberosas ricas em fruto-oligossacarídeos (FOS) com propriedades medicinais: (a) cultura comercial em Capão Bonito (SP) e (b) detalhe do sistema subterrâneo.

culos. Essas informações levam à conclusão de que giberelinas devam ser consideradas inibidores da tuberização. Sendo assim, quais seriam os hormônios antagônicos de AG? O ácido abscísico (ABA) tem desempenhado esse papel em outros processos, porém o balanço ABA/AG em condições indutoras não fornece

evidências de que essa hipótese seja verdadeira para a tuberização. Entre cultivares diplóides de batata foi encontrado um mutante incapaz de controlar a transpiração devido à deficiência em ABA. Dentre outras características, essas populações apresentavam tuberização em dias longos.

**FIGURA 21.6**

Plantas de *Costus arabicus* da Mata Atlântica com potencial ornamental: (a) detalhe de uma planta cultivada experimentalmente, (b) em canteiro de propagação e (c) em casa de vegetação, (d, e) com destaque para os botões florais e (f) para os rizomas amiláceos.

O cultivo *in vitro* de diferentes cultivares e linhagens transgênicas de *S. tuberosum* indicou que ácido indol-3-acético (AIA) e cinetina agem de forma diferenciada, o primeiro aumentando o tamanho dos tubérculos e o segundo afetando seu número. O grau de intensidade da resposta a esses fitormônios é dependente dos níveis de sacarose do meio de cultura e do genótipo do cultivar em estudo. Enquanto a necessidade de hormônios vegetais de crescimento para promover a tuberização *in vitro* foi cabalmente demonstrada em *Ullucus tuberosus*, em *Dioscorea delicata* o processo de tuberização não ocorre *in vitro*, embora o metabolismo de carboidratos seja afetado pelos níveis de citocininas e de sacarose do meio de cultura (Chu & Figueiredo-Ribeiro, 2002).

As citocininas estariam envolvidas na indução de tubérculos através de estímulo das divisões celulares, que constituem uma das primeiras alterações morfológicas do processo de tuberização. Contudo, a parada de divisões celulares no meristema apical e posterior alongamento, divisão e deposição de amido nas células do meristema subapical do estolão não têm sido relacionados ao efeito desse hormônio. Desfavorecem essa hipótese observações de que os níveis de citocininas aumentam no ápice do estolão durante a tuberização, porém esse aumento é pequeno e declina após 4 dias de condições indutoras (ver Cap. 10, Citocininas).

Alguns compostos fenólicos podem atuar como sinalizadores da tuberização, destacando-se o glicosídeo de ácido tuberônico (GAT) e o ácido jasmônico (AJ) e seus derivados. O ácido jasmônico, por exemplo, promove a tuberização de batata quando o processo é inibido por AGs *in vitro* ou por condições fotoperiódicas inibitórias. Ácido octadecanóico e derivados do ácido alfa-linoléico, entre eles o metiljasmonato e o ácido jasmônico, estão envolvidos no transporte de informações provenientes das folhas para os órgãos-alvo, atuando nos mecanismos de defesa contra herbívoros e patógenos, além de afetar a tuberização de *S. tuberosum* através do estímulo à expansão radial, à formação de tecido de sustentação periférico e à inibição do alongamento.

Outra classe de substâncias relacionadas com o desenvolvimento de tubérculos de batata são as poliaminas, que aumentam o número de tubérculos e reduzem seu tamanho, afetando a distribuição dos carboidratos neles armazenados.

Como um grande número de genes estão envolvidos no controle da tuberização, é provável que as condições indutoras do processo desencadeiem simultaneamente mudanças nas concentrações de vários compostos por síntese e degradação destes, e o balanço entre essas substâncias é que controlaria a tuberização. Além dos hormônios, outros fatores poderiam fazer parte desse balanço, como os níveis de carboidratos ou a razão carbono/nitrogênio. Conclusões definitivas só poderão ser obtidas quando métodos analíticos mais sofisticados e sensíveis puderem avaliar as proteínas associadas aos genes que controlam o processo de tuberização, estabelecendo se o hipotético estimulador da tuberização corresponde a um único composto ou a uma série de compostos operando conjuntamente.

METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS EM ÓRGÃOS TUBEROSOS

Além das diferenças observadas no padrão de divisão celular, resultando em modificações morfológicas no estolão de *S. tuberosum*, outras alterações mensuráveis podem ser detectadas após a indução do processo de tuberização, como aumento da captação de gás carbônico pelas folhas, aumento no transporte de carboidratos para os tubérculos em formação, decréscimo no teor de açúcares redutores e aumento de sacarose e biossíntese de amido. Esses processos independentes culminam com a formação do órgão de reserva.

A mobilização de carboidratos, durante o processo de tuberização, difere entre as plantas. Em batata, imediatamente após a indução de tuberização, o estolão cessa o crescimento em extensão e os produtos fotossintetizados são preferencialmente translocados para a região subapical, onde se inicia o desenvolvimento do tubérculo. Em *Pachyrhizus erosus*, espécie nativa do México da família Papilionoideae, o mesmo padrão é observado, como o acúmulo de carboidratos no tubérculo após uma fase de desenvolvimento ativo. Em mandioca (*Manihot esculenta*), somente após o pleno desenvolvimento da parte aérea tem início a formação das raízes tuberosas, através do crescimento lateral e vertical de raízes adventícias. Com a formação do órgão de reserva, seguem-se a perda de folhas, senescência do caule e dormência, permitindo a sobrevivência das plantas em condições desfavoráveis, como falta de água ou temperaturas extremas.

Com o processo de indução desencadeado, é nítido o acúmulo de carboidratos, tanto na forma de amido como de açúcares solúveis fotossintetizados ou redistribuídos de órgãos de armazenamento temporário como folhas e caules. Após um período indutivo de 4–5 dias curtos, foi observado, em batata, que a biossíntese de amido e de patatina, proteína de reserva, medida por cDNA (ácido desoxirribonucléico complementar) era aumentada cerca de 24 horas antes da observação visível de intumescimento do estolão. Durante muito tempo, a formação de amido foi considerada um dos parâmetros necessários ao desenvolvimento dos tubérculos. Contudo, baseado em estudos com plantas transgênicas, ficou claro que o acúmulo de amido não é necessário para esse processo. Assim, a redução da enzima pirofosforilase de adenosina-difosfato-glicose (pirofosforilase ADP-glicose) por repressão anti-senso diminuiu significativamente o teor de amido em tubérculos de batata, enquanto a formação dessas estruturas não foi afetada, havendo apenas um aumento no número e redução no tamanho dos tubérculos formados.

A sacarose produzida pela fotossíntese nas folhas é armazenada nos cloroplastos na forma de amido transitório, o qual é depois degradado para nova síntese de sacarose. Esta é então translocada pelo floema para o interior das células dos órgãos de reserva subterrâneos, acumulando-se nos vacúolos. Fatores ambientais e hormonais alteram a translocação de sacarose, que corresponde a 80–85% do conteúdo orgânico do floema. Assim, alta temperatura, limitação da luz, estresse hídrico e baixa concentração de sais minerais reduzem o crescimento dos órgãos de reserva através de alterações na translocação da sacarose.

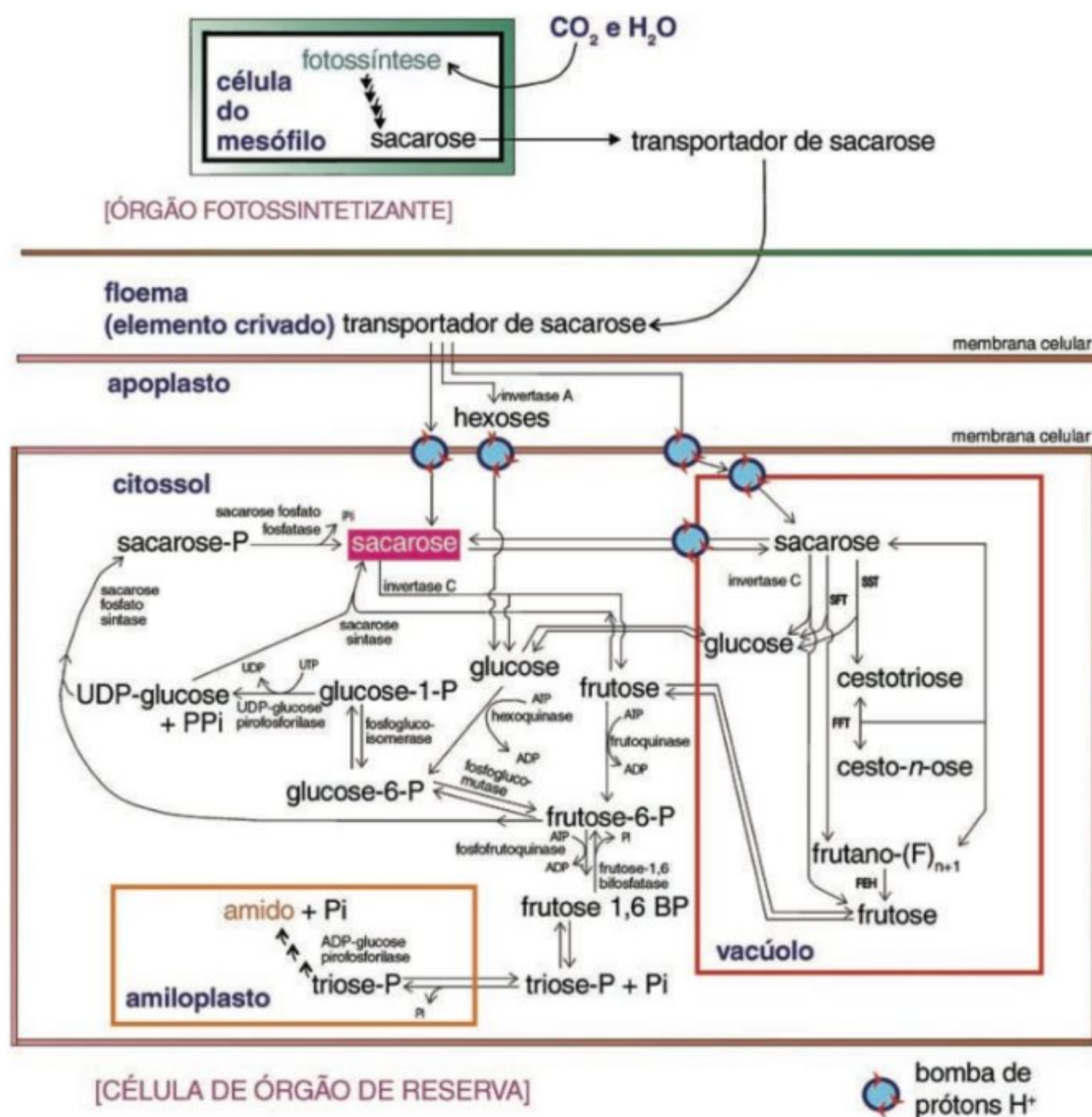


FIGURA 21.7

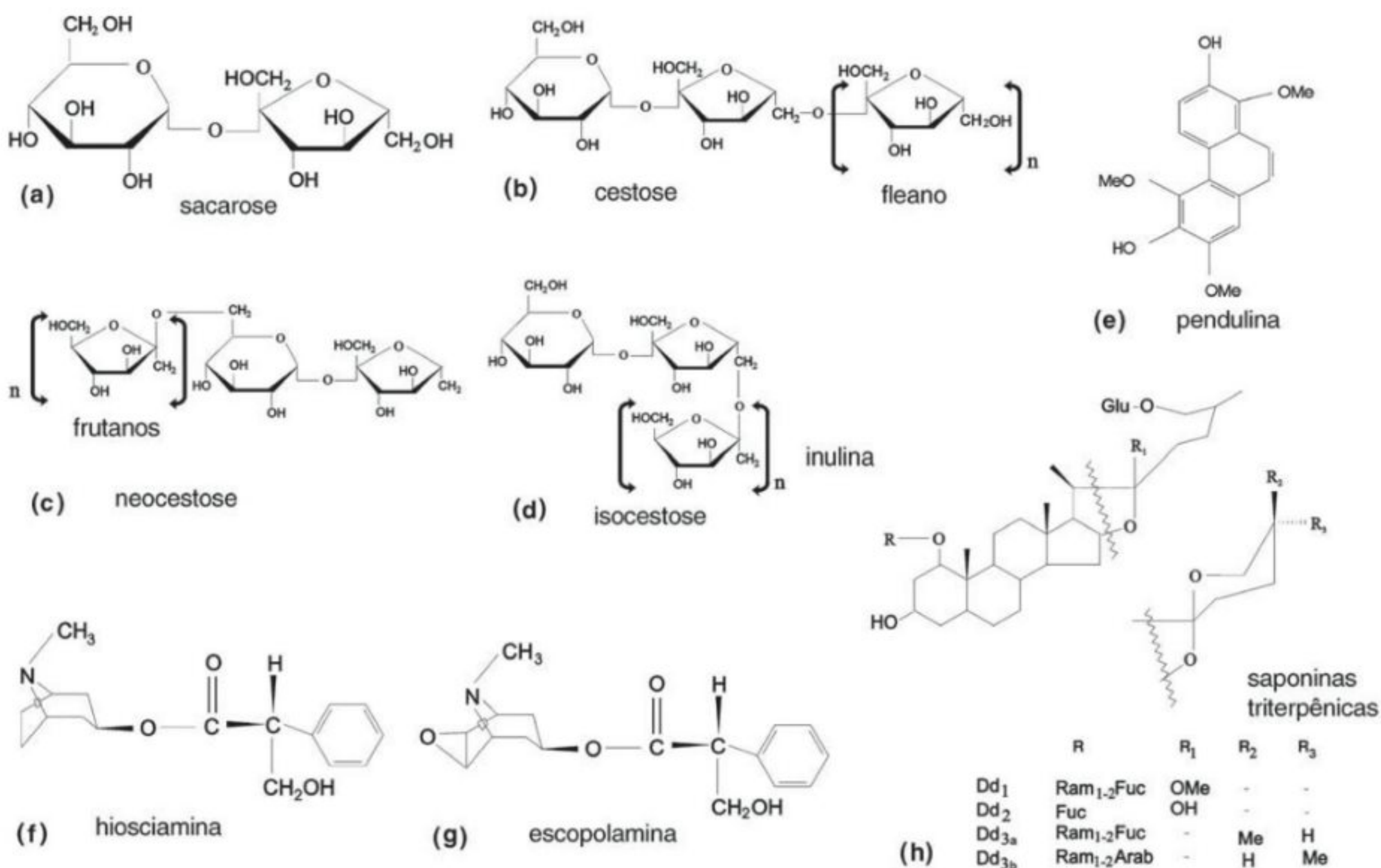
Esquema geral do armazenamento de carboidratos em plantas herbáceas perenes com órgãos de reserva. (Adaptada de Avigad & Dey, 1997; Dennis & Blakeley, 2000.)

O interesse acadêmico no esclarecimento completo do metabolismo da sacarose nos últimos anos é indiscutível. A Fig. 21.7 esquematiza as principais vias metabólicas envolvendo a sacarose e os polissacarídeos de reserva mais estudados, amido e frutanos.

A sacarose é degradada por invertases ou pela sintetase de sacarose (na forma reversa) no vacúolo ou no citoplasma; a glucose e a frutose liberadas são fosforiladas por suas respectivas cinases, penetrando no amiloplasto e iniciando a formação dos grânulos de amido. A síntese de amido é similar nos cloroplastos e amiloplastos, envolvendo a presença de vários precursores e das enzimas pirofosforilase ADP-glucose, que é uma enzima-chave na síntese do amido, a sintetase de amido, que promove o alongamento das cadeias do alfa-1,4-glucano; e as enzimas ramificantes, responsáveis pela microestrutura do grânulo de amido.

Acredita-se que os níveis de sacarose atuem como sinais de dreno para mobilização das reservas armazenadas nas células parenquimáticas dos tubérculos de batata, de acordo com a demanda. Para testar essa hipótese, foram produzidas plantas

transgênicas de batata, com níveis alterados de sacarose. Para inibir o transporte de sacarose pelo floema, foi expressa, nas células floemáticas das plantas transgênicas, uma invertase citosólica de levedura. Os tubérculos dessas plantas foram colhidos e analisados quanto ao conteúdo de carboidratos e a taxa respiratória, sendo observada uma diminuição dramática nos níveis de sacarose devido à atividade da invertase. Em consequência, houve uma diminuição no crescimento dos brotos e um estímulo para a degradação do amido armazenado. Uma vez que a hidrólise da sacarose leva ao metabolismo acelerado de hexoses, a análise das plantas transgênicas não permitiu distinguir se os efeitos observados eram devidos aos níveis de sacarose ou das hexoses dela derivadas. Assim, para evitar o envolvimento do metabolismo de hexoses no processo, a redução no conteúdo de sacarose foi estimulada através da expressão de uma isomerase apoplástica de sacarose, obtida da bactéria *Erwinia rhapsontici* (Börnke *et al.*, 2002). Essa enzima catalisa a conversão reversível de sacarose para o carboidrato palatinose, que não é metabolizado pelas células vegetais. Como consequência da atividade da isomerase de

**FIGURA 21.8**

Estrutura de compostos acumulados nos órgãos de reserva de plantas nativas e cultivadas: (a) sacarose e trissacarídeos (b, c, d) originários das séries de polímeros de frutose, (e) pendulina – antifúngico de *Dioscorea delicata*, (f, g) alcalóides tropanos e (h) saponinas triterpênicas de *Dioscorea delicata*.

sacarose inserida nas plantas transgênicas, quase toda a sacarose foi convertida a palatinose. Assim, contrastando com as plantas que estavam expressando a invertase, naquelas com a isomerase de sacarose o metabolismo das hexoses não foi estimulado, sendo acelerada a hidrólise de amido. Esses resultados sugerem fortemente que os níveis de sacarose são responsáveis pela regulação dos processos metabólicos que ocorrem durante a transição dos tubérculos de órgão-dreno (fase de tuberação) para órgão-fonte (quebra de dormência e brotação de ramos aéreos).

A sacarose também é o carboidrato iniciador da biossíntese dos frutanos, polímeros de frutose acumulados em quantidades apreciáveis nos vacúolos de plantas consideradas evoluídas, como espécies de Poales e Asterales (Fig. 21.8). É provável que esses polímeros estejam envolvidos na crioproteção e na regulação da pressão osmótica em plantas sob estiagem, além de atuarem como reserva de carboidratos (Carvalho & Figueiredo-Ribeiro, 2001; Carvalho *et al.*, 2007). O frutano mais simples é um trissacarídeo, tendo sido isolados três isômeros que compõem as séries homólogas de frutanos: (a) inulina, que tem 1-cestose como base e ligações beta-2,1 F, com grau de polimerização (GP) máximo de 35 e peso molecular aproximado de 5 kDa, encontrada principalmente em Asteraceae como em *Vernonia herbacea* do cerrado brasileiro, onde mais de 60% dos representantes acumulam esses

polímeros nos órgãos subterrâneos de reserva, atingindo quantidades superiores a 70% do peso seco. Em *Viguiera discolor*, outra espécie do cerrado, a inulina tem cadeias até 5 vezes mais longas que nas demais Asteraceae; (b) levano ou fleano, com o precursor 6-cestose, ligações beta-2,6 F, GP máximo de 250 e peso molecular entre 5 e 50 kDa, encontrados principalmente em Poaceae. *Gomphrena macrocephala*, uma Amaranthaceae do cerrado, inusitadamente acumula fleano em sua raiz tuberosa, constituindo cerca de 50% do seu peso seco (Vieira & Figueiredo-Ribeiro, 1993); e (c) série da neocestose com ligações b-2,6 G e GP entre 8 e 10, comum em Liliaceae. A primeira etapa da síntese dos frutanos envolve a sacarose:sacarose frutossil-transferase (SST), que catalisa irreversivelmente a transferência da frutosila da sacarose doadora à sacarose aceptora, originando o trissacarídeo 1-cestose, que, por sua vez, é oceptor de outras unidades de frutosila, através de reação catalisada pela frutano:frutano frutossil-transferase (FFT), permitindo o aumento ou redução da cadeia do polímero sem gastos de energia (Carvalho & Figueiredo-Ribeiro, 2001; Carvalho *et al.*, 2007).

Além dos carboidratos já mencionados e de outros polissacarídeos solúveis, como os glucomanos, outros compostos são acumulados nos órgãos de reserva. Destacam-se as proteínas de reserva armazenadas em corpos protéicos (patatina e esporamina,

respectivamente em batata e batata-doce), os glicosídeos cianogênicos em mandioca, as saponinas esteroidais (precursores de hormônios sexuais e adrenocorticais) em espécies de *Dioscorea*, os glicosídeos fenólicos e flavonóides como antocianidinas (responsáveis pela coloração rósea e vermelha dos tubérculos) e copigmentos, as saponinas triterpênicas de ginseng (*Panax ginseng* – Araliaceae), os alcalóides tropanos (hioscianina e escopolamina), em *Mandragora officinalis* (Solanaceae), e as naftoquinonas (antibiótico e corantes) em *Lithospermum erythrorhizon* (Boraginaceae).

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DOS ÓRGÃOS TUBEROSOS

Como já foi enfatizado nos itens anteriores, além de ocupar posição central no metabolismo e no controle do desenvolvimento das plantas, a sacarose tem destacada importância econômica na agricultura, pois é um dos principais alimentos da maioria dos organismos vivos. O interesse prático pelos estudos do metabolismo de sacarose e dos carboidratos de reserva dela derivados vem sendo ampliado de forma crescente nas últimas décadas, devido à possibilidade de criação de plantas transgênicas mais eficientes na síntese e acúmulo de sacarose e na sua conversão em biomassa e energia, isto é, na produção do biocombustível etanol após hidrólise das reservas e fermentação.

A região andina é reconhecida como um dos mais importantes centros mundiais de origem das espécies cultivadas, e cerca de 25 culturas tuberosas foram domesticadas nessa região, incluindo a batata. Um aspecto curioso é que essa grande diversidade de culturas evoluiu em uma das regiões menos apropriadas para a agricultura, através de adaptações a condições ambientais extremas.

As raízes e tubérculos de espécies andinas eram predominantes na dieta durante o Império Inca, o que não surpreende, pois os órgãos subterrâneos constituem uma eficiente estratégia de sobrevivência em ambientes inóspitos. Além disso, raízes e tubérculos também produzem o mais elevado rendimento em calorías por área cultivada. As espécies andinas mais importantes na alimentação, além da batata, são uluco (*Ullucus tuberosus* – Basellaceae), produtora de vitamina C e saponinas; *Arracia xanthorrhiza* (Umbelliferae), oca (*Oxalis tuberosa* – Oxalidaceae), manchua (*Tropaeolum tuberosum* – Tropaeolaceae) e yacón (*Smallanthus sonchifolius* – Asteraceae), produtora de fruto-oligossacarídeos (FOS), sendo consumida como fruta, especialmente por diabéticos.

Órgãos subterrâneos de algumas espécies tuberosas nativas ou cultivadas no Brasil e potencialmente úteis podem ser observados nas Figs. 21.2 a 21.6, e as estruturas químicas dos principais compostos nelas encontrados estão representadas na Fig. 21.8.

Utilizados pelo homem desde tempos imemoriais, os órgãos tuberosos ocupam lugar de destaque na produção agrícola mundial, como pode ser constatado na Tabela 21.1. Isso ocorre especialmente nas regiões tropicais, onde a agricultura ainda

tende a ser baseada em culturas que se propagam vegetativamente.

Além das espécies produtoras de amido apresentadas na Tabela 21.1, outras espécies ricas em carboidratos solúveis, como a cenoura (*Daucus carota*) e a beterraba (*Beta vulgaris*), também são consumidas mundialmente e exemplificam como a domesticação pode afetar as propriedades nutricionais das raízes. Curiosamente, as variedades modernas de cenoura foram selecionadas pelo alto conteúdo de beta-carotenos, a partir de variedades de cor branca ou púrpura, com altos níveis de antocianinas. Igualmente, a beterraba açucareira foi selecionada para altas concentrações de sacarose (20% da massa seca), a partir de variedades que continham menos de 2% desse açúcar em suas raízes tuberosas.

Entre as espécies que contêm frutanos, *Helianthus tuberosus* e *Cichorium intybus* (Asteraceae) são cultivadas para a produção comercial de inulina e, também, para o consumo como legumes (Carvalho *et al.*, 2007; Figueiredo-Ribeiro *et al.*, 2007). Sua produção, no entanto, é inferior à da beterraba açucareira. A tecnologia agrícola utilizada na cultura das duas espécies produtoras de inulina é a mesma já aperfeiçoada para batata e beterraba, o que facilitou sua produção e comercialização. Entretanto, após a colheita dos tubérculos, a inulina é rapidamente metabolizada, produzindo frutose e frutanos de baixo peso molecular (FOS), especialmente quando são armazenados sob temperaturas baixas. Assim, o processamento dos tubérculos deve ser realizado de forma rápida se o interesse é a produção de inulina de alto peso molecular. Por outro lado, se o interesse comercial consiste na produção de concentrados de frutose de alta pureza ou de FOS, a labilidade dos frutanos durante o armazenamento é uma característica vantajosa.

Muitos órgãos subterrâneos consumidos como alimento pelo homem também vêm sendo utilizados para tratamento de várias doenças. É o caso de raízes tuberosas cujas propriedades são atribuídas às formas humanas que possuem, como as de ginseng (*Panax ginseng*) da China, de pfafias (*Pfaffia paniculata* e *P. jubata*) e de paratudo (*Gomphrena macrocephala*), da família Amaranthaceae, amplamente distribuídas nos cerrados brasileiros. Os efeitos fisiológicos da utilização dessas espécies têm base bioquímica definida, sendo devidos à presença de saponinas triterpenoidais atuando como tonificantes e estimulantes dos mecanismos de defesa contra patógenos (Kuroda *et al.*, 2006).

Substâncias com atividades similares, constituindo a base para a semi-síntese de hormônios esteroidais, vêm sendo extraídas de tubérculos de várias espécies de cará (família Dioscoreaceae), como aquelas de origem africana e asiática, *Dioscorea sylvatica* e *D. deltoidea*. Entre as espécies brasileiras, *Dioscorea delicata* contém essas substâncias e também mostrou-se eficaz como antibiótico, devido à presença de uma substância do grupo fenantreno, denominada pendulina.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As etapas iniciais do processo de tuberização não estão completamente elucidadas, estando envolvidos os fitocromos A e B das

TABELA 21.1
Produção mundial e brasileira de raízes e tubérculos comparada às principais culturas de importância econômica

Espécie ⁽¹⁾	Nome popular ⁽²⁾	Produção (1.000 toneladas) ⁽³⁾									
		Brasil				Mundo					
		1990	1997	2001	2005	1970	1980	1990	1997	2001	2005
Raízes e tubérculos ⁽⁴⁾											
<i>Solanum tuberosum</i>	batata	2.234	2.670	2.787	3.128	298.692	241.386	266.063	302.348	300.195	320.128
<i>Beta vulgaris</i>	beterraba doce	-	-	-	-	224.252	267.856	309.187	268.310	234.245	250.884
<i>Manihot esculenta</i>	mandioca	24.322	24.354	24.088	25.725	98.560	124.253	152.353	161.950	178.868	209.429
<i>Ipomoea batatas</i>	batata-doce	637	655	485	538	136.900	138.389	123.664	121.795	135.919	121.864
<i>Allium cepa</i> (desidr.)	cebola	869	881	982	1.099	16.273	21.632	29.407	39.327	46.750	61.382
<i>Dioscorea</i> sp.	cará, inhame	215	215	235	230	17.426	11.636	21.140	34.711	38.614	48.674
<i>Daucus carota</i>	cenoura	-	-	-	-	7.854	10.445	13.581	18.895	19.632	24.804
<i>Allium sativum</i>	alho	71	64	102	86	2.855	4.252	6.426	8.858	10.121	14.603
<i>Cynara scolymus</i>	alcachofra	-	-	-	-	1.276	1.254	1.323	1.241	1.279	1.262
<i>Zingiber officinalis</i>	gengibre	-	-	-	-	114	246	465	712	835	1.120
outros tubérculos ⁽⁵⁾	-	-	-	-	-	5.221	4.095	4.641	6.809	9.222	15.439
Outros produtos vegetais de importância											
<i>Saccharum officinarum</i>	cana-de-açúcar	262.074	332.612	339.136	422.926	608.616	735.923	1.053.371	1.251.526	1.254.856	1.267.211
<i>Zea mays</i>	milho	21.348	32.948	41.411	35.134	265.911	395.144	483.249	584.954	609.182	709.366
<i>Oryza sativa</i>	arroz	7.420	8.351	10.207	13.192	316.367	396.818	518.166	577.118	592.831	628.198
<i>Triticum</i> sp.	trigo	3.094	2.489	3.203	4.659	310.637	440.102	592.273	613.210	582.692	622.561
<i>Glycine max</i>	soja	19.898	26.391	37.675	51.182	43.692	81.039	108.449	144.420	176.639	212.577
<i>Phaseolus vulgaris</i>	feijão	2.234	2.840	2.445	3.022	12.549	13.474	17.031	16.409	16.772	13.315
<i>Coffea</i> sp.	café	1.780	1.465	1.229	2.134	3.850	4.829	6.063	7.045	5.939	5.180

Fonte: faostat.fao.org/site/3336/desktop.default (2007); ⁽¹⁾ espécies ou gêneros de acordo com denominação da FAO; ⁽²⁾ nome popular (podem existir outras denominações locais); ⁽³⁾ dados referentes a produção de exportação e consumo local; ⁽⁴⁾ produtos alimentícios (amido e sacarose); ⁽⁵⁾ nova denominação no banco de dados, abrangendo *Colocasia esculenta* (taro, taioba), *Xanthosoma sagittifolium* (taioba) e demais tubérculos.

folhas maduras e a translocação do estímulo aos órgãos-alvo, onde, através da ação dos hormônios vegetais, os produtos da fotossíntese são redirecionados para a formação de polissacarídeos. Estudos sobre caracterização imunocitoquímica e molecular do florígeno (ver Cap. 18, Floração) em arroz (Tamaki *et al.*, 2007) sugeriram que praticamente todas as respostas associadas com a transição do desenvolvimento vegetativo (tuberização) para o reprodutivo (floração), induzidas pelo fotoperíodo, são produzidas pela proteína Hd3a/FT, que foi descrita como fator morfogênico móvel e que regula as múltiplas fases do crescimento vegetal controladas pelo comprimento dos dias.

Numerosos trabalhos na literatura descrevem a importância de giberelinas, citocininas, ácido jasmônico e compostos relacionados e de ácido abscísico na indução de tuberização. Embora os dados sejam muitas vezes contraditórios, uma observação clara é que os níveis de giberelinas declinam durante o processo de tuberização. Evidências de que o ácido abscísico desempenhe papel na indução de tuberização são menos convincentes do que as das citocininas e dos derivados de ácido jasmônico. Conforme foi destacado, o potencial alimentar das plantas tuberosas e seu uso para produção de biocombustível precisa ser mais bem explorado. Artigo recente destacou a produção de novos combustíveis obtidos a partir de frutose que poderiam substituir os de origem fóssil (petróleo), com grandes vantagens econômicas e ecológicas (Román-Leshkov *et al.*, 2007). Essa descoberta ressalta a importância das plantas do cerrado brasileiro, ricas em polímeros de frutose, como aquelas já estudadas e mencionadas anteriormente neste capítulo, como fonte alternativa para a produção de biocombustível, além de sua utilização como alimento funcional. Outros compostos de interesse econômico, como os hormônios esteroidais armazenados nos órgãos tuberosos, são efetivamente conhecidos e utilizados até o momento. Essas substâncias constituem a base das defesas químicas e das reservas energéticas das plantas contra herbívoros e patógenos, através de mecanismos não totalmente desvendados, considerando a sobrevivência do indivíduo em ambientes competitivos e com grande predação.

O conhecimento básico sobre a indução de tuberização e metabolismo dos compostos armazenados nesses órgãos representa, portanto, uma forma de ampliar seu potencial econômico. A utilização adequada dos reguladores de crescimento poderá também multiplicar a produção agrícola e aumentar o rendimento mundial.

REFERÊNCIAS

Börnke F, Hajirezaei MR, Heineke D, Melzer M, Herbers K, Sonnewald U. High-level production of the non-cariogenic sucrose isomer palatinose in transgenic tobacco plants strongly impairs development. *Planta*, 2002; 214:356-364.

Carvalho MAM, Figueiredo-Ribeiro RCL. Frutanos: ocorrência, estrutura e composição, com ênfase em plantas do cerrado. In: Lajolo FM, Saura-Calixto F, Penna EW, Menezes EW (eds). *Fibra Dietética em*

Iberoamérica: Tecnología y Salud. Varela Editora e Livraria Ltda, São Paulo, 2001, pp 77-89.

Carvalho MAM, Asega AF, Figueiredo-Ribeiro RCL. Fructans in Asteraceae from the Brazilian Cerrado. In: Shiomi N, Benkeblia N, Onodera S (eds). *Recent Advances in Fructooligosaccharides Research*. Research Signpost Press, Kerala, India, 2007, Chapter 4, pp. 69-91.

Chu EP, Figueiredo-Ribeiro RCL. Carbohydrates changes in shoot cultures of *Dioscorea* species as influenced by photoperiod and exogenous concentrations of sucrose and cytokinins. *Plant, Cell, Organ and Tissue Culture*, 2002; 70:241-249.

Figueiredo-Ribeiro RCL, Carvalho MAM, Pessoni RAB, Braga MR, Dietrich SMC. Chapter 2. Inulin and microbial inulinases from the Brazilian cerrado: occurrence, characterization and potential uses. In: Silva JT (ed) *Functional Ecosystems and Communities. Volume 1*. Global Science Books, Kenobe (Japan), 2007.

Garner WW, Allard A. Effect of length of day on plant growth. *Journal Agriculture Research*, 1923; 18:553-606.

Itaya NM, Carvalho MAM, Figueiredo-Ribeiro RCL. Fructosyltransferase and hydrolase activities in rhizophores and tuberous roots upon growth of *Polymnia sonchifolia* (Asteraceae). *Physiologia Plantarum*, 2002; 116:451-459.

Kuroda M, Aoshima T, Haraguchi M, Young MCM, Sakagami H, Mimaki Y. Oleanane and taraxerane glycosides from the roots of *Gomphrena macrocephala*. *Journal of Natural Products*, 2006; 69:1606-1610.

Román-Leshkov Y, Barrett C, Liu ZY, Dumesic JA. Production of dimethylfuran for liquid fuels from biomass-derived carbohydrates. *Nature*, 2007; 447:982-985.

Suárez-Lopes P. Long-range signalling in plant reproductive development. *International Journal of Developmental Biology*, 2005; 49:761-771.

Tamaki S, Matsuo S, Wong HL, Yokoi S, Shimamoto K. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*, 2007; 316:1033-1036.

Vieira CCJ, Figueiredo-Ribeiro RCL. Fructose-containing carbohydrates in the tuberous root of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae) at different phenological phase. *Plant Cell Environment*, 1993; 16: 919-928.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

Avigad G, Dey PM. Carbohydrate metabolism: storage carbohydrates. In: Dey PM, Harbone JB (eds). *Plant Biochemistry*. Academic Press, San Diego, 1997, 554p.

Dennis DT, Blakeley SD. Carbohydrate metabolism. In: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, 2000, 1367p.

Fernie AR, Willmitzer L. Molecular and biochemical triggers of potato tuber development. *Plant Physiology*, 2001; 127:1459-1465.

Flores HE, Flores T. Biology and biochemistry of underground plant storage organs. In: Johns T, Romeo H (eds). *Functionality of Food Phytochemicals*. Plenum Press, New York, 1997, pp 113-132.

Hajirezaei MR, Börnke F, Peisker M, Takahata Y, Lerchl J, Kirakosyan A, Sonnewald U. Decreased sucrose content triggers starch breakdown and respiration in stored potato tubers (*Solanum tuberosum*). *Journal of Experimental Botany*, 2003; 54:477-488.

Thomas, B. Light signals and flowering. *Journal of Experimental Botany*, 2006; 57:3387-3393.

Índice Alfabético

A

- ABA (v. Ácido abscísico)
- Abacate, 161
- Abacaxi, 118
- Abacaxizeiro, obtenção de mudas de, 200
- Abertura estomática induzida pela luz, 28
- Abóbora gigante, 365
- Abortamento, 361
- Abscisão
 - de órgãos, 291
 - de tomate, 291
 - - isoformas associadas com, 291
 - foliar, 205
 - órgão em, 206
 - zona de, 290
- Absorção(ões)
 - de água nas raízes, 15
 - de nutrientes pelas plantas, dinâmica, 44
 - - aeração, 45
 - - interações iônicas, 46
 - - micorrização, 46
 - - pH, 46
 - - temperatura, 45
 - - umidade, 45
- Acácia, 290
- ACC, ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico, 273
 - efeito em estacas de *Vigna radiata*, 292
- Acer pseudoplatanus*, 175, 255
- Acetabularia mediterranea*, 272
- 8'-Acetileno-ABA, 269
- Acetobacter diazotrophicus*, 53
- Acetolactato, sintase do, 78
- Acidificação da parede celular, modelo, 194
- Ácido
 - abscísico, 146, 227, 255-270
 - - análogo sintético do, 269
 - - aplicações práticas do, 268
 - - atividades, 257
 - - biossíntese, 257
 - - - a partir das xantofilas, 259
 - - - etapas, 258
 - - - locais da, 257
 - - descoberta, 255
 - - em células-guardas, modo de ação do, 264
 - - enantiômeros, 256
 - - estrutura, 257
 - - histórico, 255
 - - inativação do, 257
 - - isômeros do, 256
 - - mecanismo de ação, 261
 - - - expressão gênica, 265
 - - - percepção, 261
 - - - transdução de sinais, 264
 - - ocorrência nas plantas, 256
 - - principais formas, 257
 - - - proteção contra injúrias, 268
 - - - senescência, 268
 - - principais funções do, 265
 - - - desenvolvimento da semente, 266
 - - - dormência de gemas, 268
 - - - proteção ao estresse hídrico, 266
 - - síntese
 - - - dos carotenóides não-oxigenados, 258
 - - - e clivagem das xantofilas, 258
 - - - no citossol, 260
 - - transporte, 261
 - alantóico, 72
 - chiquímico, 76
 - cósmico, 76
 - fenilacético, 185
 - fosfoenol pirúvico, 115
 - giberélico, 236, 286
 - indolilacético, 182
 - - biossíntese do, 184
 - - conjugação, 186
 - - degradação, 187
 - - - rotas de, 188
 - - dependentes de triptofano, rotas biossintéticas de, 185
 - - livre nas células vegetais, mecanismos reguladores dos níveis, 186
 - - metabolismo do, 184
 - jasmônico, 299
 - - biossíntese, 299
 - - - via esquemática, 299
 - - funções, 299
 - orgânico de três carbonos, 106
 - oxaloacético, 115, 117
 - 2-oxosuccinâmico, 73
 - salicílico, 300
 - - biossíntese, 300
 - - funções, 301
 - tricarbóxicos, ciclo dos, 152
- Açúcares, 145, 348
 - na seiva do floema, 137
 - síntese de, 380
- Açúcares-alcoóis, 146
- Adenina, 213
- Adesão, 5, 19
 - da água, 19
- Adiantum*, 321
- Adubação
 - com N-foliar, 149
- Aeração, 45
- Aerênquima, 159, 293
 - esquizógeno, 294
 - lisígeno, 294
- Aeschynomene indica*, 54
- Ágar doador e receptor, 189
- Agaricus bisporus*, 272
- Agave, 287
- Agente laranja, 291
- Agrobacterium tumefaciens*, 214, 228
- Água
 - absorção nas raízes, 15
 - eficiência de uso de, 24, 119
 - estrutura, 2
 - fotoxidação da, 93, 96
 - molécula da, estrutura, 2
 - movimento
 - - entre células e tecidos, 11
 - - radial nas raízes, 15
 - no solo, 13
 - no xilema, movimento ascendente de, 17
 - potencial de, 9
 - - componentes do, 10
 - processos no movimento da, 6
 - - difusão, 6
 - - fluxo em massa, 6
 - - osmose, 7
 - propriedade(s)
 - - físicas, comparação, 2
 - - físico-químicas, 2, 4
- AIA (v. Ácido indolilacético)
- AIA-glicose, 218
- Alagamento, 283
 - efeito sobre os teores de ACC, 284
- Alanina, 78
- Alantoina, 72
- Albizia julibrissin*, 326
- Alcalóides tropanos, 416
- Alfa-caroteno, 94
- Alface, 304, 396
- Algas, 83, 272
- Algodão, 255
- Alho, 160
- Allium cepa*, 160, 342, 409
- Alnus*, 53
- Alofana, 37

- Alongamento celular, 177, 192, 249
 Alpiste, coleóptilos de, 182
 Alumínio, octaedros de, 38
 Amadurecimento e frutificação, 358-383
Amaranthus sp., 116
 - *retroflexus*, 397, 402
 Amendoim, 56, 342
 Amido
 - hidrólise de, 161
 - molécula de, 122
 - nos cloroplastos, síntese de, 121
 Amilopectina, 121, 122
 Amilose, 121, 122
 Aminoácidos
 - aromáticos, 76
 - - família dos, 76
 - biossíntese de, 74
 - da família do aspartato, regulação da biossíntese dos, 76
 Aminoetoxivinilglicina, 288
 Aminotransferases, 73
 - da alanina, 74
 - da asparagina, 73
 - do aspartato, 74
 Amônia, 113
 Amonificação, 51
Anabaena cylindrica, 53
Anadenanthera falcata, 57
Ananas comosus, 349
 Anatomia do tipo Kranz, 114
Andira spp., 56
 Anel
 - de porfirina, 93
 - *ent-caureno*, 237
 - purfínico, 216
 Anelamento, 147
 Anemocoria, 358
 Angico-de-cerrado, 57
 Angiosperma
 - flor de, 353
 - não-leguminosa, nódulo indeterminado de, 58
 Anidrase carbônica, 116
 Annonaceae, 301
Anthoceros punctatus, 53
 Antiporte, 42
 Antocianidina, 375
 Antocianinas, 375
 Antranilato, 76
 - sintase do, 77
 Aparelho estomático, 25
 Apigenina, 375
 Apoplasma (= Apoplasto), 138
 - representação do, 139
 Apoplasto (= Apoplasma), 11, 16, 41
 - via do, 16
 Apoproteína, 308
 Apoptose, 286, 287
 Aquaporinas, 7
Arabidopsis, 296, 316
 - floração, 354
 - fruto de, sem fertilização, 253
 - germinação de sementes de, controle, 393
 - mutantes de, 345
 - plantas transgênicas de, 228
 - *thaliana*, 54, 108, 188, 207, 217, 321, 333, 348
 - - ovário recém-polinizado de, varredura de, 381
 Araceae, 301
Arachis hypogaea, 56, 342
 Aranda, 348
Aranthera, 348
Araucaria angustifolia, 322
 Argilas silicatadas, 37
 Arginina, biossíntese de, 77
 Aristochiadaceae, 301
 Arogenato, 76
 Arquitetura do dossel, 131
 Arroz, sinal de giberelinas, 244
 Asparagina
 - aminotransferase da, 73
 - sintetase, 71
 Aspartato, 74
 - aminotransferase, 74
 - cinase do, 74
 - família do, 74
 - regulação da biossíntese dos aminoácidos da família do, 76
Aspergillus
 - *clavatus*, 272
 - *flavus*, 272
 Atividade mitótica, 364
 Aurora, detecção da, 316
 Auto-radiografia, 106
 Auxinas, 182-211
 - alongamento celular, 192
 - conjugadas, 187
 - crescimento da gema axilar, 197
 - diferenciação celular, 196
 - efeito(s)
 - - fisiopatológicos das, 191
 - - sobre a síntese de giberelina em caule de ervilha, 196
 - expansão celular, 192
 - formação
 - - do ganho apical, 200
 - - dos primórdios foliares e filotaxia, 199
 - histórico da descoberta, 182
 - mecanismo
 - - celular de transporte, 191
 - - de ação, 207
 - metabolismo do AIA, 184
 - naturais, 183
 - quebra da dominância apical, 197
 - sintéticas, 183
 - - herbicidas de, 207
 - transporte polar das, 187
 Auxotróficos, 214
 Aveia
 - coleóptilo de, teste de curvatura do, 183
Avena sativa, 183
 Avenca, 321
Avicenia nitida, 159
 Azaléia, 253
Azolla, 53
 - *caroliniana*, 272
Azorhizobium, 54
Azospirillum, 53
 - *lipoferum*, 53
Azotobacter, 53, 60, 402
 - *chroococcum*, 402
 - *paspali*, 53
B
 Bactérias, 53
 - endofíticas, 53
 Bacteróides, 56
 - em célula infectada, 59
 Bagas, 358
 Bainha perivascular, 114
 - células da, 115
Bakanae, doença, 235
 Balanço
 - auxina/citocinina, desenvolvimento vegetal e o, 227
 - energético do ciclo C₃, 108
 Banana, 161
 Barreira hidrofóbica, 41
 Batata, 160
Begonia evasiana, 409
Beijerinckia, 53
 - *fluminensis*, 53
 Benzilaminopurina, 213
 Beta-caroteno, 94
 Beterraba açucareira, 143
 Bicamada lipídica, 41
 Bico-de-papagaio, 342, 345
Bidens
 - *gardneri*, 342
 - *pilosa*, 351, 402
 Biomassa vegetal, 85
 Bioquímica da parede celular, 167
 Biossíntese
 - da fenilalanina, 76
 - da isoleucina, 75
 - da metionina, 75
 - da tirosina, 76
 - da treonina, 75
 - de arginina, 77
 - de giberelinas, 236
 - - principais locais, 236
 - - substâncias inibitórias da, 240
 - de lisina, 75
 - de prolina, 77
 - do triptofano, 76
 - dos aminoácidos da família do aspartato, regulação da, 76
 Biotecnologia
 - citocininas e, 231
 - parede celular e a, 180
 Birnessita, 37
Blasia pusilla, 53
 Bomba(s)
 - de pressão, diagrama de uma, 21
 - de prótons, 142
 Boro, 35
 - deficiência de, 49
Botrytis cinerea, 284
 Bracatinga, 56
Brachiaria decumbens, 401
Bradyrhizobium, 54
Brassica, 54
 - *chinensis*, 296
 - *napus*, 296, 354
 Brassinosteróides, 238, 296
 - biossíntese dos, 296
 - funções, 296
Bromelia epifita, 214
 Bromeliácea, 118
Bryonia dioica, 325
Bryophilum, 229
C
 C₄, descarboxilação de moléculas, 118
 Cacaueiro, 232
 Cactáceas, 118
 Café, 180
Calathea sp., 402
 Cálcio, 35
 - deficiência de, 48
 Calcita, 37
Calea cuneifolia, 347
Callitriche platycarpa, 286
 Calor
 - específico, 4
 - latente
 - - de fusão, 4
 - - de vaporização, 4
 Calose, 136
 Calvin, ciclo de, 76
 Calvin-Benson, ciclo de, 106

- CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*), 25, 117
(v. MAC)
- Camada de solvatação, 4
- Câmaras
- aerenquimatosas, 293
 - subestomacais, 25
- Câmbio vascular, 134
- Cana-de-açúcar, rizosfera da, 53
- Canela-sassafrás, 401
- Cannabis sativa*, 252
- Caolinita, 37
- Capacidade de campo, 14
- Capilaridade, 18, 19
- Capim-arroz, 115
- Capim-colchão, 115
- Capim-massambara, 401
- Capsicum annuum*, 342
- Carboidratos em plantas herbáceas, armazenamento de, 415
- Carbono, 35
- entre sacarose e amido, controle da alocação, 124
 - metabolismo fotossintético do, 103
 - na fotossíntese, metabolismo do, 103
 - nas células fotossintéticas, 123
- 2-Carboxiarabinitol-1-fosfato, 108
- Carboxilação, 103
- Cargas nas partículas do solo, 39
- Carotenóides, 93
- biossíntese, 377
 - estrutura de alguns, 94
 - não-oxigenados, síntese dos, 258
- Carotenos, 94
- Carpelo(s), 359, 360
- Carregadores móveis, 93
- Carregamento
- de fotoassimilados no sistema de elementos crivados, 140
 - do floema, 140
 - - em células foliares-fonte, 141
 - - visão geral, 143
 - dos elementos crivados, 140
- Caruru, 397
- Caspary, estrias de, 16
- Cassia, 327
- Casuarina, 53
- Catsetum fimbriatum*, 230
- Catharothus roseus*, 87, 397
- Cattleya*, 351
- híbrida, síndrome do desenvolvimento pós-polinização, 362
- Caule(s), 159
- aquáticos, 160
 - coleóptilos e, 324
 - desenvolvimento do, 197
- Cavidades subestomáticas, 25
- Cavitação, 21
- Ceanothus*, 53
- Cebola, 342
- Cecropia*, 314
- Cell-free system*, 237
- Célula(s)
- buliformes, 326
 - companheiras, 135, 136
 - crivadas, 134
 - da bainha perivascular, 115
 - da endoderme, 17
 - de passagem, 17
 - de transferência, 137
 - do mesófilo, 114, 115
 - epidérmicas, 26
 - - absorptivas, 42
 - foliares-fonte, carregamento do floema em, 141
 - infectada
 - - bacteróide em, 59
 - - de *Tipuana tipu*, 59
 - livres, 237
 - motoras, 327
 - - extensoras, 327
 - - flexoras, 327
 - subsidiárias, 25, 88
- Células-fonte e células-dreno, fluxo de pressão entre, 135
- Células-guardas, 22, 88
- de estômatos
 - - de *Commelina communis*, potássio em, 28
 - - de *Vicia faba*, potássio em, 28
 - plastídeos das, 25
- Celulose, 167
- estruturas químicas, 170
- Centro(s)
- de atração, 225
 - de ferro-enxofre, 98
 - de reação, 83
- Cestose, 415
- Chenopodium*
- *album*, 402
 - *murale*, 348
 - *rubrum*, 348
- Chlorella*, 102, 272
- Cholodny-Went, teoria de, 319
- Chrysanthemum*, 345, 346
- Cianobactérias, 53, 83
- Ciclo
- autocatalítico, 106
 - bioquímico C₄, 115
 - C₂, 111
 - - fotorrespiração e o, 110
 - C₃, 106
 - - balanço energético do, 108
 - - etapas do, 106
 - - regulação do, 108
 - de Calvin, 76, 107
 - de Calvin-Benson, 104, 106, 116
 - de Krebs, 112, 152
 - de Yang, 274
 - dos ácidos tricarbóxicos, 152
 - fotossintético, 104
 - redutivo do carbono, 106
- Cinase (ou Quinase)
- de γ -glutamil, 78
 - do aspartato, 74
 - do N-acetilglutamato, 78
- Cinetina, 212, 213
- Ciperáceas, 115
- Cissus verticillata*, folhas de, 19
- Cistationina- γ -sintase, 74
- Cisteína, 78
- biossíntese de, 79
- Citocininas, 212-234, 348
- alvos primários das, 222
 - biotecnologia e, 231
 - diferenciação celular, 223
 - efeito das, 225
 - estrutura das, 213
 - hidrólise das, 219
 - modo de ação das, 220
 - na interação entre os vegetais e o ambiente, 230
 - no vegetal como um todo, dinâmica das, 214
 - por glicosilação, conjugação, 218
 - sintéticas, 213
 - tipos de, principais, 217
- Citoplasma, 7, 41
- síntese de sacarose no, 123
- Citossol, síntese do ácido abscísico no, 260
- conjugação, 260
 - degradação, 261
- Citrulina, 72
- Citrus*
- *deliciosa*, 254
 - *reticulata*, 252
 - *vokameriana*, 290
- Classes hormonais, interação com, 226
- Climatério, 161
- Clorita, 37
- Cloro, 35
- deficiência de, 50
- Clorofilas, 91
- catabólitos de, 374
 - degradação da, 374
- Clorofilase, 374
- Clorofilida, 374
- Cloroplastos, 88, 89
- pirofosfatase dos, 117
 - síntese de amido nos, 121
- Clorose de topo, 146
- Clostridium*, 53
- CO₂
- concentração de, mecanismos fotossintéticos de, 114
 - disponibilidade, 125
 - efeitos na síntese de etileno, 283
 - ponto de compensação de, 110
 - trocas, medidas de, 126
- Cobre, 35
- deficiência de, 49
- Coesão, 5
- da água, 19
 - teoria da, 18
- Coleóptilo, 318
- de alpiste, 182
 - de aveia, teste de curvatura do, 183
- Coleus*, 196
- Commelina*
- *communis*, potássio em células-guardas de estômatos de, 28
- Complexo(s)
- antena, 92, 95
 - ATP sintase, 93
 - citocromo b₆f, 93
 - de captação de luz, 92, 95
 - de Golgi, 57, 167
 - estomático, 25, 88
 - protéicos, 95
- Compostos
- fenólicos, 173
 - nitrogenados, 230
- Comunidades vegetais, fotossíntese e produtividade em, 130
- Condutividade
- hidráulica do solo, 15
 - térmica, 5
- Conjugação, 216, 241
- Constante
- de Planck, 90
 - dialética, 4, 5
- Copaifera langsdorffii*, 402
- Cor, mudança de, 374
- Corantes viologênio *bipiridilium*, 101
- Coriaria*, 53
- Corrente(s)
- de infecção, 55, 56
 - de partículas, luz como uma, 90
 - fixadoras, 56
 - transpiratória, 135
- Córtex, 16
- Costus arabicus*, 412, 413
- Couve, 54
- Crassulacean Acid Metabolism*, 25, 117
- Crassuláceas, mecanismo ácido das, 117
- Crepúsculo, detecção do, 316
- Crescimento(s)
- ácido, hipótese do, 194
 - caulinar, 249, 286
 - da gema axilar, 197

- entre caules e raízes, integrado, 228
- por divisão celular, 251
- Criptocromos, 304
- Crisântemo, 342
- Cromóforo do fitocromo, 308
- Cromoplastos, 376
- Croton urucurana*
 - plantas de
 - - aplicação de Ethrel, 289
 - - curvaturas das folhas de, 289, 290
- Crucifereae, 54
- Cucumis*, 67
 - *anguria*, semente de, germinação final e velocidade de germinação, 396
 - botões florais de, 204
 - *melo*, 342
 - *sativus*, 252, 305, 342
- Cucurbita
 - *maxima*, 146, 236
 - *pepo*, 138
- Cucurbitaceae, 290
- Culturas, produtividade econômica das, 132
- Cutícula, 86
- Cyclantaceae, 301
- Cymbidium*, 346
- Cyperus rotundus*, 115, 401

D

- Dalbergia*
 - *miscolobium*, 23
 - *nigra*, 56
- Damping*, 332
- Datura ferox*, 405
- Decapitação, 199
- Deficiência
 - de boro, 49
 - de cálcio, 48
 - de cloro, 50
 - de cobre, 49
 - de enxofre, 47
 - de ferro, 49
 - de fósforo, 47
 - de magnésio, 48
 - de manganês, 49
 - de molibdênio, 49
 - de níquel, 590
 - de nitrogênio, 47
 - de potássio, 47
 - de zinco, 49
- Degradação
 - de giberelinas, 241
 - de isopenteniladenina, 220
- Dendrobium*, 346, 348
 - *nobile*, 231
- Descarregamento do floema, 140
 - visão geral, 143
- Desenvolvimento
 - de flores, 203, 352
 - de frutos, 203
 - radicular, 201
- Desidratação, 386
- Desidrogenase
 - da homossiderina, 74
 - do glutamato semi-aldeído, 78
- Desquelastase, 374
- Dessecação, tolerância à, 386
- Diagravitrópicos, 321
- Diagravitropismo, 319, 322
- Dicotiledôneas, 29, 305
 - herbáceas, 25
 - lenhosas, 25
- Diferenciação celular, 196, 223
- Difusão, 6

- Digitaria*
 - *horizontalis*, 115
 - *sanguinalis*, 116
- Diidropicolinato, sintase do, 74
- Dímero de clorofila *a*, 96
- Dionaea*, 329
- Dioscorea delicata*, 414
- Dióxido de carbono, 30
 - solubilidade do, 113
- Diplodia natalensis*, 284
- Dispersão, 358
- Divisão celular, 191, 222, 284, 361, 363
- Doença(s)
 - *bakanae*, 235
 - da planta-boba, 235
- Dominância apical
 - desenvolvimento antes e depois da captação do ápice caulinar, 199
 - quebra da, 197
- Donnan, espaço livre de, 138
- Dormência
 - classificação, 405
 - conceito, 404
 - em embriões somáticos, 253
 - em sementes, quebra de, 247
 - estados de, 405
 - física, 406
 - fisiológica, 405
 - morfológica, 406
 - quebra da, 406
 - química, 406
- Dossel, arquitetura do, 131
- Drenos, 147
 - de armazenamento, 368
 - de utilização, 362
 - estabelecimento de, 223
- Drosera*, 329
- Droseraceae, 329
- Drosophila melanogaster*, 333
- Drupas, 358
- Ducto(s)
 - de resina em Pinaceae, 290
 - gomíferos em Prunoideae, 290
 - rameiros em *Pinus*, 290

E

- Echinochloa colonum*, 115
- Efeito Warburg, 110
- Eficiência quântica, 127
- Eichhornia*, 202
- Einstein-Stark, lei da equivalência fotoquímica, 91
- Eleagnus*, 53
- Elementos
 - crivados, 134
 - - constituição dos, 136
 - - do floema, 135
 - de vaso, 17
- Elétron(s)
 - cadeia de transporte de, 155
 - fluxo fotossintético de, 93, 96
 - transporte de, 96, 101
 - - via alternativa de, 156
- Embebição, 11, 315, 389
- Embira-de-sapo, 57
- Embolia, 21
- Embrião
 - filtros naturais que atingem o, 397
 - formação do, 363
 - maturação do, 361, 364
- Endoderme, 16
 - células da, 17
- Endorreduplicação, 365
- Energia
 - de excitação eletrônica, 91
 - dos fótons, 91
 - livre, 8
 - química, conversão da luz em, 88
 - Ent-caureno*, 237
 - Ent-giberelano*, 237
 - Envelope, 88
 - Enxofre, 35
 - assimilação do, 80
 - deficiência de, 47
 - Enzima
 - ACO, 373
 - ACS, 373
 - anidrase carbônica, 116
 - da fase regenerativa do ciclo C3, regulação, 108
 - dependente
 - - de NAD, 116
 - - de NADP, 116
 - descarboxiladora dominante, 116
 - desidrogenase do glutamato, reação catalisada pela, 70
 - glicose-6-fosfato isomerase, 121
 - NADP-malato desidrogenase, 116
 - nitrogenase, 54
 - PEP carboxilase, 115
 - redutase do nitrato, modelo, 68
 - sintetase da glutamina, reação catalisada pela, 70
 - Enzimas-alvo, 110
 - Epiderme, 16
 - de *Catharathus roseus*, 87
 - de *Gomidesia spectabilis*, abaxial, 87
 - Epidoto, 37
 - Epífitas, 118
 - Epinastia, 283, 288, 319
 - Epinastismo, 325
 - Epitema, 19
 - Equação de Nernst, 142
 - Equisetum hyemale*, 272
 - Ervas daninhas, controle, 207
 - Ervilha, 161, 341
 - caule de, efeito da auxina sobre a síntese de giberelina, 196
 - mutantes, experimento utilizando, 241
 - plântulas estioladas, 271
 - Erwinia rhapontici*, 415
 - Escherichia*, 53, 215
 - Escopolamina, 416
 - Escototropismo, 319, 321
 - Esmectita, 37
 - Espaço(s)
 - intercelulares, 126
 - livre
 - - aparente, 138
 - - de Donnan, 138
 - - subestomático, 22
 - Espinafre, 252
 - Espinho-de-maricá, 57
 - Esqualeno, 238
 - Esquema Z, 95, 96
 - Essencialidade, critérios de, 34
 - Estaquinose, 137
 - Estatólitos, 323
 - Estelo, 16
 - Estilosantes, 56, 57
 - Estioladas, plantas, 376
 - Estômato(s)
 - apresentando células-guardas, 26
 - caracterização, 25
 - fisiologia dos, 25
 - Estratificação, 406
 - Estresse
 - hídrico, 78, 115, 326
 - - proteção ao, 266
 - situações, 164

- Estrias de Caspary, 16, 166
 Estrigol, 401
 Estroma, 88, 97
 - tilacóides do, 88
 Estruturas protegidas, 358
 Ethrel
 - em plantas de *Croton urucurana*, 289
 - reação de liberação de etileno a partir do, 275
 Etileno, 271-295
 - biossíntese, 272
 - fatores bióticos e abióticos, 283
 - - alagamento, 283
 - - CO₂, 283
 - - ferimentos mecânicos, 284
 - - infecção por patógenos, 284
 - - luz, 283
 - - oxigênio, 283
 - - seca, 284
 - - temperatura, 283
 - fórmula química do, 272
 - histórico da descoberta, 271
 - inativação, 272
 - interação com outros hormônios, 280
 - - ácido abscísico, 282
 - - auxinas, 280
 - - citocininas, 281
 - - giberelinas, 281
 - - jasmonatos, 282
 - mecanismo de ação, 275
 - ocorrência do, 272
 - principais funções nos vegetais, 284
 - - crescimento e diferenciação da parte aérea, 285
 - - divisão e expansão celular, 284
 - - dormência, 285
 - receptores de, 276
 - sinal de, via de transdução de, 280
 - síntese autocatalítica de, 373
 - transporte do, 275
Eucalyptus, 251
Euphorbia pulcherrima, 345
 Evocação floral, 351
 Excitação eletrônica, energia de, 91
 Expansão celular, 192, 284, 364
 Expansina, 172
 Expressão
 - gênica, 208, 265
 - sexual, 290
- F**
- Fabaceae, 54
 Face abaxial, 25
 Família
 - *aux/aia*, 209
 - Azotobacteriaceae, 60
 - Cucurbitaceae, 204
 - da ribose-5-fosfato, 80
 - do aspartato, 74
 - do glutamato, 77
 - do piruvato, 78
 - dos aminoácidos aromáticos, 76
 - Droseraceae, 329
 - gênica *aux/aia*, 209
 - gimnosperma, 118
 - Gramineae, 54
 - Leguminosae, 53
 - MADS box, 355
 - Solanaceae não-polinizadas, 204
 Farnesil difosfato, 238
 Fase juvenil, 351
 Fator(es)
 - ambientais, 341
 - - fogo, 347
 - - luz, 341
 - - temperatura, 345
 - - umidade, 346
 - de transcrição PIFs, 333
 - endógenos, 347
 - - açúcares, 348
 - - hormônios vegetais, 348
 - - nutrição, 347
 - Nod, 55
 Fechamento
 - estomático induzido, 29
 - hidroativo, 30
 - hidropassivo, 30
 Feijão caupi, 24
 Feijoeiro, 326
 Feldspato, 37
 Felogênio, 57
 Fenilalanina, biossíntese, 76
 Fenótipo desestiolado, 313
 Feofitina, 96
 Feoforbida, 374
 Feoforbida-oxigenase, 374
 Ferimentos, 163
 - efeitos na produção de ACC sintase e etileno, 285
 - mecânicos, 284
 Fermentação, 157, 161
 Ferredoxina, 95, 98
 Ferredoxina-tiorredoxina redutase, 110
 Ferridrita, 37
 Ferro, 35
 - deficiência de, 49
 Fertilização, 361
Ficus sycomorus, 271
 Figo, frutos do, 271
 Filotaxia, 340
 Filotaxia:espiral, padrões de filotaxia, 200
 Fitocromobilina, 308
 Fitocromo(s), 304
 - B, mecanismos de ação, 335
 - cromóforo do, 308
 - descoberta do, 304
 - formado por um dímero protéico, 308
 - formas fotorreversíveis do, 307
 - importância ecofisiológica, 313
 - mecanismos de ação, 312
 - modos de ação, 311
 - moléculas dos, 308
 - na planta
 - - expressão dos, 308
 - - localização, 308
 - phyA, 309
 - propriedades físico-químicas dos, 308
 - variações e proporções, 344
 - subunidades protéicas dos, 309
 - tipo A, 311
 - uma família gênica, 306
 Fitoeno, 238
 Fitol, 93
 Flavonas, 375
 Flavonóides, 375
 Flavoproteínas receptoras de luz azul, 411
 Fleano, 415
 Floema
 - elementos crivados do, 135
 - em células-fonte, carregamento do, 141
 - seiva do, açúcares encontrados na, 137
 - sistema de transporte no, 134
 Flor(es), 160
 - desenvolvimento de, 203
 - não polinizada, 362
 Floração, 340-357
 - aspectos moleculares, 352
 - controle fotoperiódico da, 342
 - desenvolvimento floral, 352
 - efeito do fogo na, 347
 - evocação floral, 351
 - fases de desenvolvimento, 340
 - hipóteses sobre a natureza do sinal floral, 349
 - *in vitro* de plantas orquídeas, 355, 357
 - indução da, 341
 - - fatores
 - - - ambientais, 341
 - - - endógenos, 347
 - respostas de, tipos, 342
 Fluência
 - comprimento e, interação entre, 310
 - respostas de, 309
 Fluorescência, 91
 Fluxo
 - de massa, 6
 - respiratório, 157
 Fogo, 347
 Folhas, 86, 160, 360
 - de espécie C₄, típica, 87
 - de fortuna, 229
 - de Gramineae, 296
 - de *Hymenaea courbaril* L., células de, 166
 Força(s)
 - da gravidade, 19
 - de tensão, 5
 - de van der Waals, 2
 - protoniônica, 142
 - próton-motriz, 145
 - tênsil, 5
 3-Fosfoglicerato, família do, 78
 Fosfoglicolato fosfatase, 111
 Fósforo, 35
 - deficiência de, 47
 Fotoblásticas negativas e positivas, sementes, 304
 Fotoconversão Fv-Fve, 307
 Fotodormência, 314
 Fotofosforilação, 93, 99
 - cíclica, 99
 - não-cíclica, 99
 - pseudocíclica, 99
 Fotoinibição, 114
 Fotoliasas, 316
 Fotomorfogênese, 225
 Fotonastias, 303
 Fotoperiodismo, 303
 Fotoperíodo, 341
 Fotoproteção, 93
 Fotorreceptores, 91, 304
 Fotorrespiração
 - papel da, 113
 - processo de, 74
 - taxas de, fatores que afetam as, 113
 Fotorreversão, 344
 Fotorreversibilidade, 306
 Fotossíntese, 82-133
 - aspectos ecofisiológicos associados à, 124
 - balanço energético do ciclo C₃, 108
 - ciclo autocatalítico, 106
 - ciclo C₂, 111
 - conversão da luz em energia química, 88
 - destino dos produtos da, 120
 - eficiência no uso da água e, 127
 - estrutura da máquina fotossintética, 86
 - etapas do ciclo C₃, 106
 - fatores que afetam as taxas de fotorrespiração, 113
 - fotofosforilação, 99
 - fotossistema I, 98
 - fotossistema II, 95
 - fotoxidação da água, 96
 - geradora de O₂, 84
 - líquida, 125

- - variação, 126
 - mecanismo C₄, 114
 - mecanismo MAC (ou CAM), 117
 - metabolismo do carbono na fotossíntese, 103
 - não geradora de O₂, 84
 - natureza física da luz, 89
 - o que acontece quando os pigmentos absorvem luz, 91
 - o que move a vida, 82
 - papel da fotorrespiração, 113
 - PEP carboxilase, 120
 - plantas de sol e de sombra, 128
 - por unidade de área foliar e produtividade, 130
 - produtividade
 - - econômica das culturas e, 132
 - - em comunidades vegetais e, 130
 - produtos da, destino dos, 120
 - regulação do ciclo C₃, 108
 - taxas de respiração celular e produtividade, 130
 - um processo
 - - de oxidação-redução, 83
 - - em duas etapas, 83
 - Fotossistema, 95, 98
 - I, 93
 - II, 95
 - Fototropinas, 31, 304, 316
 - Fototropismo, 303, 318
 - em caule, mecanismo hipotético, 321
 - em coleóptilos de aveia, 319
 - Fotoxidação da água, 93, 96
 - Frankia*, 57, 60
 - Fruit set*, 361
 - Frutanos, 416
 - Frutificação e amadurecimento, 358-383
 - desenvolvimento do fruto, 360
 - fase
 - - I, 361
 - - II, 363
 - - III, 364
 - maturação, 368
 - Fruto(s), 160
 - amadurecimento de, 290
 - apocárpico, 358
 - armazenagem de, 382
 - climatéricos, 161, 369
 - crescimento do, 364
 - de tomate, frutificação e maturação de, 361
 - desenvolvimento, 203, 252, 360
 - - fases do, 361
 - - papel das giberelinas no, 365
 - estocagem de, 161
 - não-climatéricos, 161, 369
 - origem dos, 358
 - partenocárpico, 361
 - secos, deiscência de, 381
 - sincárpico, 358
 - suculentos, 358
 - Frutose, 143
 - polímeros de, 412
 - Frutose-6-fosfato, 121
 - Fumo, 25
 - Fusarium oxysporum*, 272
- G**
- Galactomanano, 171
 - Galactose, 143
 - Gancho
 - apical, formação do, 200
 - plumular, 201
 - Gavinhas, 325
 - Gema(s)
 - apical, 304
 - axilar, crescimento da, 197
 - dormência de, 268
 - Gene(s)
 - AP1, 355
 - AP1 (APETALA 1), 354
 - AP2, 355
 - AP3, 355
 - *aux/aia*, 209
 - C, 359
 - CEL1, 291
 - CEL2, 291
 - CEL5, 291
 - CO (CONSTANS), 354
 - Constan (CO), 411
 - CRE1, 222
 - *ctr 1*, 277
 - CYCD3, 222
 - da identidade floral LFY, 355
 - E (SEPALLATA-SEP), 359
 - EIN2, 279
 - EMF (*embryonic flower*), 353
 - envolvidos na determinação do tamanho e forma do tomate, 366
 - *fasciated*, 367
 - FD (*flowering locus D*), 354
 - *fix*, 57
 - FLC, 353
 - *frq*, 334
 - FRUITFULL, 381
 - FT, 354
 - FT (*flowering locus T*), 354
 - *fw2.2*, 361
 - GID1, 242
 - homeóticos ABCDE, 356
 - homeóticos AG (AGAMOUS), 355
 - INDEHISCENT, 382
 - IPT, 223, 233
 - *LeACS1A*, 373
 - *LeACS4*, 373
 - LEAFY, 282
 - *LeETR3*, 373
 - *nif*, 53, 57
 - *nod*, 55
 - *ovate*, 365
 - PI (PISTILLATA), 355
 - PISTILLATA, 363
 - RIN, 372
 - *rs1-1*, 201
 - SHATTERPROOF, 381
 - SOC1, 282
 - TFL1 (*Terminal flower 1*), 353, 355
 - ZM-P60, enzima codificada pelo, 219
 - Geotropismo, 319
 - Geranyl difosfato, 238
 - Geranylgeranyl difosfato, 238
 - Germinação, 247, 384-408
 - controle, 392
 - critérios, 389
 - desenvolvimento da semente, 384
 - - controle do, 387
 - - desidratação, 386
 - - etapas, 385
 - - tolerância à dessecação, 386
 - etapas da, 389
 - - embebição, 389
 - - extensão radicular, 390
 - - fatores que influenciam, 395
 - - processo de, 389
 - - critérios, 389
 - - terminologia, 389
 - - semente, 384
 - - tipos de, 389
 - Gesso, 37
 - Gibberella fujikuroi*, 235
 - Gibbsita, 37
 - Giberelinas, 235-254
 - ação das, 393
 - aplicações comerciais, 253
 - bioativa, 241
 - biossíntese, 236
 - - estrutura química, 237
 - - etapas da via, 239
 - - precursores, 237
 - - principais locais, 236
 - - substâncias inibitórias da, 240
 - citocininas, interações entre, 249
 - conjugação, 241
 - degradação, 241
 - efeitos no crescimento e desenvolvimento vegetal, 247
 - histórico, 235
 - mecanismo, 242
 - - de repressão de respostas às, 243
 - - percepção do sinal, 242
 - - proteínas DELLA, 243
 - modo de ação, 242
 - no desenvolvimento do fruto, papel das, 365
 - ocorrência, 235
 - transporte, 241
 - via biossintética, etapas da, 239
 - Gimnospermas, água nas, 17
 - Ginkgo biloba*, 53
 - Glicerato cinase, 113
 - Glicina, 78
 - biossíntese, 79
 - descarboxilase, 113
 - Glicolato, esquema da via bioquímica do, 112
 - Glicólise, 151
 - Glicose, 143
 - Glicosilação, conjugação de citocinas por, 218
 - Gloeocapsa*, 60
 - Glucomananos, 170, 171
 - Glucuronoarabinosilanos, 170
 - Glutamato
 - ciclo da sintase do, 69
 - desidrogenase do, 70
 - família do, 77
 - reação catalisada pela enzima desidrogenase do, 70
 - Glycine max*, 56, 57
 - Goethita, 37
 - Goma guar*, 180
 - Gomidesia spectabilis*, 87
 - Gomphrena macrocephala*, 416
 - Gotthaus-Draper, princípio de, 91
 - Gradiente
 - de concentração de vapor de água, 23
 - de pressão de vapor, 23
 - de prótons, 98
 - Gramas-batatais, 53
 - Gramas comuns, 53
 - Gramínea, 115
 - hidronatismo em folha de, 326
 - perene, 131
 - tropical, 53
 - Gramineae, folhas de, 296
 - Grana*, tilacóides dos, 88
 - Grãos de pólen, massas de, 361
 - Gravitropismo, 319, 321
 - em plantas, seqüência hipotética, 324
 - em plântulas de milho, 324
 - Gunnera*, 53
 - Gutação, 19
- H**
- H⁺-ATPase da membrana plasmática, detecção de atividade específica, 43
 - Hábito seminífero, 358

Hedera helix, 251
Helianthus tuberosus, 411
Heliocarpus americanus, 23
 Hematita, 37
 Hemiceluloses, 167, 170
 - do grupo dos mananos, 171
Herbaspirillum seropedicae, 53
 Herbicidas, 101
 - de auxinas sintéticas, 207
Hevea brasiliensis, 23, 290
 Hexoses, 168
 Hidatódios, 19
 Hidrogênio
 - átomos de, 2
 - pontes de, 2
 Hidrólise, 216
 - de citocininas, 219
 - reações de, 40
 Hidronastia, 319
 - em folha de gramínea, 326
 Hidronatismo, 326
 Hidrotropismo, 319, 325
 Hidroxilação, 213
 Hidroxipiruvato, 113
 - redutase, 113
 Hiosciamina, 416
 Hiperpolarização, 327
 Hipocótilo, inibição do alongamento do, 311
 Hiponastia, 319
 Hiponatismo, 325
 Hipótese
 - de Cholodny-Went, 319
 - do crescimento ácido, 194
 - quimiosmótica
 - - de Mitchell, 99
Hippophae, 53
 Histidina, 80
 Histodiferenciação, 385
 Holoproteína, 308
 Homogalacturonanos, 170, 171
 Homoserina, desidrogenase da, 74
 Hormônio
 - da maturação, 368
 - do amadurecimento, 290
 - vegetal, 161, 255, 348
 - - ácido abscísico, 349
 - - auxinas, 348
 - - citocininas, 348
 - - etileno, 349
 - - giberelinas, 349
Hymenaea courbaril L., 160
Hyoscyamus niger, 350
Hyptis brevipes, 353

I

Imogolita, 37
Impatiens balsamina, 352
 Índice(s)
 - de área foliar, 131
 - de colheita, 132
 Indução, 67
 - floral, 290
 Infecção
 - corrente de, 55, 56
 - por patógenos, 284
 - radicular, 56
 - tubo de, 55
 Insulina, 412, 416
 Intensidade limiar, 323
 Interação(ões)
 - hormonais, 394
 - iônicas, 46
 Interface ar-água, 20

Íons
 - função dos, 47
 - transporte de, 163
Ipomoea, 288
 - flor de, alterações fenotípicas em, 289
 - *purpurea*, 349
 IRGA (*infra-red gas analyser*), 125
 Isocestose, 415
Isoetes, 118
 Isoleucina, 74
 - biossíntese, 75
 Isopenteniladenina, degradação de, 220
 2-Isopropilmalato, sintase do, 78

J

Jacarandá-da-baía, 56, 57
Jasminum, 299
 - *grandiflorum*, 299
 Jasmonatos, 282
 Jatobá, folha de, 160

K

Kalanchoe, 229
 - *blossfeldiana*, 342, 345
Klebsiella, 53
 Krebs, ciclo de, 112, 152

L

Lactuca sativa, 396
Laelia, 351
Lantana montevidensis, 347
 Lavanda, 248
Lavandula angustifolia Miller, 248
 Leg-hemoglobina, 53, 55
 Leguminosae, 53
 Leguminosas, 56
 Lei
 - da equivalência fotoquímica de Einstein-Stark, 91
 - da reciprocidade, 318
 - da termodinâmica, 82
 - de conservação das massas, 34
 - do mínimo, 34
Lemna gibba, 301
 Lenticela(s), 22
 - do caule de sabugueiro, 159
 - hipertrofiadas, 289
 Lentilha, 161
 Lesões, 163
Leucaena leucocephala, 54, 326
 Leucina, 78
 - biossíntese de, 79
 - isoleucina, 79
 Ligação(ões)
 - água-água, 2
 - conjugadas, 91
 - glicosídica, 169
 Ligantes, troca de, 40
 Lignina, 174
 Limeira ácida Tahiti, 254
 Lisina, 74
 - biossíntese, 75
 Lixiviação, 36, 407
Lolium
 - *perenne*, 131
 - *temulentum*, 348
Lonchocarpus
 - *leucanthus*, nódulo indeterminado de, 58
 - *muehlbergianus*
 - - raízes noduladas, 61
 - - sistema radicular de, 57

Ludwigia
 - *octovalvis*, 399
 - sp., 159
Lupinus, 67
 - *angustifolius*, 150
 - *luteus* L., 255
 Luteína, 94
 Luz, 30, 341
 - com comprimento de onda, efeitos, 343
 - como controle de partículas, 90
 - como fenômeno ondulatório, 89
 - conversão em energia química, 88
 - de transcrição PIFs, 333
 - energia que impulsiona fotossíntese, 88
 - fenômenos fisiológicos de plantas controladas pela, 303
 - flavoproteínas receptoras de, 411
 - fotomodulação do desenvolvimento pela, 316
 - na produção de etileno, efeitos da, 283
 - natureza física da, 89
 - nos ambientes naturais, 313
 - pigmentos e, 91
 - ponto de compensação de, 127
 - reações dependentes de, 83
 - resposta fotossintética à, 127
Lycopersicon
 - *esculentum*, 310, 311, 361
 - *hirsutum*, 228
Lycophyta, 118
Lycopodium phlegmaria, 272

M

MAC (*Metabolismo ácido das Crassuláceas*), 117
 (v. CAM)
 - sobrevivência das plantas e, 119
 - via bioquímica, 118
 Maçã, 161
 Macronutrientes, 35
 Magnésio, 35
 - deficiência de, 48
 Malato, 115
 Malva, orientação das folhas em relação ao Sol, 322
 Mamão, expansão celular em frutos de, 179
 Mamona, 290
 Manano, 170
 - puro, 171
 Manduirana, 326
 Manganês, 35
 - deficiência de, 49
 Mangueira, fungos em, 232
Manihot esculenta, 414
 Manitol, 143, 146
 Manjericão, 342
 Manômetro, representação de um tipo de, 18
 Máquina fotossintética, estrutura da, 86
 - cloroplastos, 88
 - folhas, 86
Marchantia polymorpha, 272
 Matriz extracelular vegetal, 167
Matteuccia struthioferis, 272
 Maturação de embrião, 361
Mature green, 377
 Mecanismo(s)
 - C₄, 114
 - fotossintéticos de concentração de CO₂, 114
 - MAC, 117
 Megasporófilos, 358, 360
 Melão, 342
 Membrana-envelope, 55
 Membranas, modificação da permeabilidade, 312
Mercurialis annua, 225
 Meristema
 - apical caulinar, 248

- controle, 248
 - vegetativo em floral, transição, 352
 - Mesofilo foliar, 25
 - Mesorhizobium*, 54
 - Metabolismo fotossintético do carbono, 103
 - 8^o-Metileno-ABA, 269
 - Metilesterases, 172
 - Metionina, 74
 - biossíntese, 75
 - Mica, 37
 - Michaelis-Menten, modelo de, 142
 - Micorrização, 46
 - Microaerofilia, 60
 - Microarranjos, análise de, 316
 - Micronutrientes, 35
 - Microorganismos, interação com, 231
 - Micropropagação, 232
 - Milheto, 116
 - Milho, 53, 129
 - Mimosa
 - *bimucronata*, 57
 - raízes noduladas, 61
 - *pudica*, 329
 - *sacabrella*, 56, 407
 - Mineral(is)
 - mais comuns no solo, 37
 - primários, 37
 - secundários, 37
 - Minulus cardinales*, 114
 - Mitoses, 385
 - Modelo de Michaelis-Menten, 142
 - Molibdênio, 35
 - deficiência de, 49
 - Monstera gigantea*, 321
 - Montenegrina, tangerineira, 254
 - Morango, receptáculo de, 204
 - Morte celular programada, 197, 286, 362
 - Morus*, 290
 - Movimento
 - acropeto, 187
 - da água, 12
 - estomático, controle do, 30
 - nictinástico foliar, mecanismo de, 328
 - termocáótico, 6
 - Mucor hiemalis*, 272
 - Mutação(ões)
 - fotomorfogênicas, 310
 - *gai-1*, 243
 - variação de tamanho e forma em frutos de tomate causada por, 367
 - Mutantes
 - *aurea*, fenótipo do, 311
 - de *Arabidopsis*, 345
 - de tomateiro, 202
 - deficientes, 256
 - no acúmulo de *phyA*, 312
 - *fri*, 311
 - *gal-3* de *Arabidopsis*, 252
 - insensíveis ao ácido abscísico, 256
 - Maryland Mammoth, 341
 - *oop1*, 334
 - *tri*, 311
 - *yellow green-2*, 311
 - Mycobacterium paraffinicum*, 272
 - Myrica*, 53
- ## N
- NADP-malato desidrogenase, 116
 - Narciso tazetta*, 290
 - Nastismos, 318, 319, 325
 - Neocestose, 415
 - Nernst, equação de, 142
 - Neurospora crassa*, 333
 - Never ripe*, 222, 292
 - NH₄⁺
 - assimilação de, 69
 - Nicotiana*
 - *sylvestris*, 350
 - *tabacum*, 25
 - Nictinastia, 319
 - Nictinastismo, 326, 327
 - Níquel, 35
 - deficiência de, 50
 - Nitrato
 - redutase do, 67
 - em folhas, 69
 - modelo esquematizado da enzima, 68
 - Nitrito, redutase do, 67
 - Nitrogenase, reações catalisadas pela, 62
 - Nitrogênio, 35
 - assimilação na planta, 66
 - ciclo do, 51, 52
 - deficiência de, 47
 - eficiência de uso do, 129
 - fixação do, 51-81
 - biológica, 52
 - bioquímica da, 60
 - desenvolvimento dos nódulos, 57
 - fisiologia da, 60
 - liberação do rizóbio, 57
 - multiplicação do rizóbio na rizosfera e sua adesão às raízes, 55
 - penetração do rizóbio na raiz, 56
 - representação do processo, 63
 - inorgânico no solo, absorção, 65
 - metabolismo do, 65-81
 - aminotransferases, 73
 - assimilação de NH₄⁺, 69
 - assimilação do enxofre, 80
 - biossíntese de aminoácidos, 74
 - ciclo da sintase do glutamato, 69
 - redução do NO₃⁻, 67
 - transportado nos sítios de consumo, utilização, 73
 - transporte do, 71
 - na planta, 66
 - NO₃⁻
 - absorvido pela raiz, destino do, 67
 - assimilação de, 69
 - fotossíntese de, 69
 - redução do, 67
 - regulação da enzima, 67
 - Nod box, parte do DNA, 55
 - Nódulo(s)
 - de angiosperma não-leguminosa, 58
 - de *Dalbergia nigra*, determinado, 58
 - de leguminosa
 - determinado, 60
 - indeterminado, 58
 - de *Lonchocarpus*
 - *leucanthus*, indeterminado, 58
 - *muelhbergianus*, bacteróide em célula infectada, 59
 - de *Parasponia*, 54, 56
 - de *Tachigalia alba*, 59
 - desenvolvimento dos, 57
 - em angiospermas não-leguminosas, 53
 - formação do, 54
 - Nostoc*
 - *punctiforme*, 53
 - spp., 53
 - Nuphar*, 159
 - Nutrição
 - controle da floração por meio da, 347
 - mineral, 33-50
 - controle de fluxo dos nutrientes, 42
 - critérios de essencialidade, 34
 - dinâmica da absorção de nutrientes pelas plantas, 44
 - elementos da relação solo-planta, 36
 - função dos íons, 47
 - sintomas de excesso e de carência, 47
 - sistemas de transporte de nutrientes das células de plantas, 40
 - Nutriente(s)
 - das células de plantas, sistema de transporte de, 40
 - dinâmica da absorção de, pelas plantas, 44
 - eficiência da utilização, curva genérica, 39
 - fluxo dos, controle, 42
 - minerais, 230
 - transporte de, 41
 - Nymphaea*, 160
 - Nymphaeaceae, 301
 - Nymphoides peltata*, 286
- ## O
- Ocimum basilicum*, 342
 - Ocotea odorifera*, 401
 - Oenothera*, 138
 - Olivina, 37
 - Oncidium*, 348
 - Ophioglossum reticulatum*, 272
 - Orchidaceae, 230, 231
 - Organismo(s)
 - fotossintetizantes, 83
 - heterotróficos, 82
 - não-fotossintetizantes, 82
 - Órgãos
 - respiração nos, 159
 - tuberosos
 - importância econômica dos, 417
 - metabolismo dos carboidratos em, 414
 - Orquídeas
 - extratos de políneas de, 361
 - Orquídeas epífitas, 351
 - Oryza sativa*, 54, 235
 - Osmômetro, representação, 8
 - Osiose, 6, 7
 - Ovário, surgimento do, 359
 - Óvulos, 360
 - de *Glossopteris*, 360
 - Oxaloacetato, 115
 - Oxidação-redução, fotossíntese, um processo de, 83
 - Oxigênio, 35
 - fotossíntese
 - geradora de, 84
 - não geradora de, 84
 - no solo, 292
 - para produção de etileno nas plantas, 283
 - quantidade de, 162
 - solubilidade do, 113
- ## P
- Pachyrhizus*
 - *erosus*, 414
 - *tuberosus*, 411
 - Palmae, 301
 - Palmeira *Phoenix*, 170
 - Palmito, 180
 - Panicum*
 - *maximum*, 116, 401
 - *miliacium*, 116
 - Parasponia*, 53, 54, 56
 - nódulo, 56
 - Parede celular, 165-181
 - bioquímica da, 167
 - biotecnologia e, 180
 - funções e papéis biológicos da, 176

- importância ambiental da, 180
- propriedades físicas, 174
- química da, 167
- relações com funções e papéis biológicos, 174
- vegetal, modelos, 174
- Parênquima
 - lacunoso, 87
 - paliçádico, 87
- Partenocarpia, 204, 363
- Passagem, células de, 17
- Patch clamp, 42
- Patógenos, infecção, 284
- Pectinas, 171
- Pêlo absorvente, 16, 138
 - formação de, 292
- Pelthophorum dubium*, 284
 - área celular, 285
- Pendulina, 416
- Penicillium*, 272
 - *cyclopium*, 272
 - *digitatum*, 272
 - *expansum*, 284
 - *velutinum*, 272
- Pentoses, 168
- PEP
 - carboxilase, 115, 120
 - regeneração do, 116
- PEPcase, 120
- Pepino, 304, 342
- Percepção, 318
 - de sinal, 221
- Petúnia, 292
- Phalaenopsis*, 231, 346
- Phalaris canariensis*, 182, 318
- Pharbitis nil*, 284, 345
- Phaseolus*
 - *coccineus*, 240
 - *lunatus*, 217
 - *vulgaris*, 108, 236
- Phoenix, 170
- Picão-do-cerrado, 342
- Picão-preto, 402
- PIF (*Phytochrome interacting factors*), 333
- Pigmento(s)
 - fotossintéticos, 93
 - luz e, 91
 - síntese de, 161
- Pimenta, 342
- Pinaceae, ductos de resina em, 290
- Pinus*, 342
 - ductos resíferos em, 290
- Pirofosfatase dos cloroplastos, 117
- Pirrolina-5-carboxilato, sintetase de, 78
- Piruvato fosfato dicinase, 116, 129
- Pisum sativum*, 236, 296, 341
- Placa(s)
 - crivadas, 134
 - de perfuração, 17
- Plagiogravitropismo, 321
- Plagiogravitropismo, 319
- Phalaris canariensis*, 318
- Planck, constante de, 90
- Planta(s)
 - adaptadas
 - - à sombra, 314
 - - ao sol, 315
 - C₃, folhas de, 74
 - CAM, 25
 - crescendo em clareiras, 315
 - cultivadas, compostos acumulados nos órgãos de reserva das, 416
 - de *Dendrobium* Second Love, 231
 - de pepino, 305
 - de proveta, 212
 - de sol, 128
 - - facultativas, 128
 - - obrigatórias, 128
 - de sombra, 128
 - - facultativas, 128
 - - obrigatórias, 128
 - do cerrado brasileiro, 412
 - doadora, 232
 - elementos essenciais às, 35
 - fotomorfogênese em, 303-317
 - - controle do desenvolvimento, 304
 - - fitocromo, 304
 - - fotomodulação do desenvolvimento pela luz azul, 316
 - - importância ecofisiológica dos fitocromos, 313
 - - luz nos ambientes naturais, 313
 - herbáceas, 19
 - perenes, armazenamento de carboidratos em, 415
 - induzidas à floração, 252
 - invasoras, 314
 - lenhosa, 255
 - monocárpica, 287
 - movimentos em, 318-330
 - - nastismos, 325
 - - principais, 319
 - - tropismos, 318
 - mutantes
 - - de ervilha, experimento, 250
 - - *gai-1* de *Arabidopsis*, 244
 - nativas, compostos acumulados nos órgãos de reserva de, 416
 - ritmos circadianos nas, 331-357
 - superanãs *nana*, 240
 - transgênicas, 212
 - - de *Arabidopsis*, 229
 - tuberosas
 - - amiláceas, 411
 - Plantamicroorganismo, interação, 232
 - Plântula(s)
 - crescidas no escuro, 304
 - de abóbora, 241
 - de aveia, 183
 - de feijoeiro, 202
 - de gramíneas, 182
 - de pepino, 305
 - estioladas, 304
 - - de ervilha, 271
 - recém-germinadas, desestiolamento de, 314
 - Plasmalema, 41, 140
 - Plasmodesmas, 25, 137, 138
 - Plastídeos das células-guardas, 25
 - Plastocianina, 93
 - Plastoquinona, 93, 96
 - estrutura da, 97
 - Pneumatóforos, 159
 - Poder redutor, 84
 - Poliaminas, 297
 - biossíntese, 297
 - - via esquemática da, 298
 - funções
 - - celulares, 298
 - - no desenvolvimento vegetal, 299
 - Poliidroxialdeído, 168
 - Poliidroxiketona, 168
 - Polímero de frutose, 412
 - Polinização, 361
 - Polymnia sonchifolia*, 412
 - Polystichum munitum*, 272
 - Ponkan, tangerineira, 254
 - Pontes diferúlicas, 173, 174
 - Ponto(s)
 - de compensação
 - - de CO₂, 110
 - de luz, 127
 - de ebulição, 4
 - de fusão, 4
 - de murchamento permanente, 15
 - de saturação de luz, 128
 - Porfirina, um anel de, 93
 - Poros, 25
 - estomáticos, 23
 - Pós-colheita, 161
 - Potássio, 35
 - deficiência de, 47
 - Potencial(is)
 - da membrana, 142
 - de ação, 329
 - de água, 9
 - - de nove espécies de planta, 13
 - de pressão, 10
 - gravitacional, 11
 - hídrico, 399
 - matricial, 11
 - mátrico, 11
 - osmótico, 10
 - químico, 8
 - Prefenato, 76
 - Pressão
 - hidrostática, 6
 - osmótica, 8
 - positiva da raiz, 18
 - Princípio(s)
 - de Gotthaus-Draper, 91
 - flogístico, 33
 - Processo(s)
 - de assimilação e transporte de N na planta, inter-relação, 66
 - de estiolamento, 200
 - de fotorrespiração, 74
 - fotossintético, níveis de organização do, 86
 - Haber-Bosh, 52
 - Produção mundial de tubérculos e raízes, 418
 - Produtividade
 - arquitetura do dossel, 131
 - econômica das culturas, 132
 - em comunidades vegetais, fotossíntese e, 130
 - taxas de respiração celular, 130
 - Prolina, biossíntese de, 77
 - Proplastídeos, 88
 - Propriedades espectrofotométricas, 308
 - Proteção respiratória, 60
 - Proteína(s), 172
 - AUX/AIA, 210
 - cinase, 68
 - CTR1, 277
 - - ETR1 e, interação entre, 279
 - de choque térmico, 387
 - DELLA, 243
 - fosfatase, 68
 - ligadora de clorofila, 335
 - MAPK13, 279
 - MAPK6, 279
 - PERIOD, 334
 - phy, 308
 - SIMKK, 279
 - TIMELESS, 334
 - transportadoras, 88
 - Prótons, bombas de, 142
 - Prunoideae, ductos gomíferos, 290
 - Pseudofruto, 204
 - Pseudomonas solanacearum*, 272
 - Psymorchis*, 355
 - Pteridium aquilinum*, 272
 - Pterodon pubescens*, 321
 - Pulsos, 368
 - da síntese de etileno, 369
 - Purina, 213

Q

- Quanta, 90
- Quantum, 90
- Química da parede celular, 167
- Quimiotropismo, 319, 325
- Quociente respiratório, 162

R

- Radiação(ões)
 - fotossinteticamente ativa, 128
 - principais, 90
- Rafinose, 137
- Raiz(es)
 - absorção de água nas, 15
 - adventícias, 292
 - - massa seca nas, 293
 - aerenquimatosas, 293
 - crescimento, 291
 - de *Sorghum bicolor*, 401
 - diferenciação de, 291
 - intacta, ápice de, 323
 - movimento radial de água nas, 15
 - percepção, 323
 - pressão positiva da, 18
 - resposta, 323
 - transdução, 323
 - tubérculos e, produção mundial, 418
- Raleio da cultura da macieira, 205
- Ramnogalacturonanos, 171
- Ranunculus sceleratus*, 286
- Reação(ões)
 - centros de, 83
 - de hidrólise, 40
 - dependentes de luz, 83
 - no escuro, 84
 - primária da fotossíntese, 84
 - redox, 83
- Receptores de etileno, 276
- Redução, 213
- Redutase do nitrato, 67
- Registro fóssil, 1
- Regnillidium diphyllum*, 286
- Regulador(es)
 - outros, 296-302
 - permissivo, 338
- Relação(ões)
 - água-planta, 7
 - hídricas, 1-32
 - - absorção de água nas raízes, 15
 - - água e temperatura, 30
 - - água no solo, 13
 - - dióxido de carbono e luz, 30
 - - estrutura
 - - - da água, 2
 - - - físico-química da água, 2
 - - fisiologia dos estômatos, 25
 - - movimento
 - - - ascendente de água no xilema, 17
 - - - da água entre células e tecidos, 11
 - - - radial de água nas raízes, 15
 - - potencial
 - - - de água, 9
 - - - de pressão, 10
 - - - gravitacional, 11
 - - - matricial, 11
 - - - mátrico, 11
 - - - osmótico, 10
 - - - químico, 8
 - - processos do movimento da água, 6
 - - propriedade(s)
 - - - de coesão e adesão, 5

- - - de solvente, 4
- - - térmicas, 4
- - transpiração, 21
- solo-planta, elementos da, 36
- Relógio
 - biológico, 316
 - circadiano
 - - base molecular, 333
 - - componentes, 333
 - - - básicos, 333
 - - fotoperiodismo e, interação, 338
 - - fotorreceptores que ajustam, características, 334
 - - mecanismo central, estrutura básica, 337
- Reostato, 229
- Reserva, substâncias de, 379
- Respiração, 150-164
 - anaeróbica, 159
 - celular, taxas de, 130
 - de crescimento, 130
 - de manutenção, 130
 - ecofisiologia e, 164
 - fluxo de carbono na célula, 151
 - na planta inteira, 163
 - nas plantas por fatores internos, controle, 161
 - nos tecidos e órgãos, 159
- Resposta(s)
 - ao fitocromo, 309
 - de fluência, 309
 - fotossintéticas
 - - à luz, 127
 - - à temperatura foliar, 129
 - hormonal, 278
 - tríplice, 271
- Ressonância indutiva, 92
- Retículo
 - do vaso crivado, 136
 - endoplasmático, 57
- Revolução verde, 34
- Rhizobium*, 54
 - *leguminosarum*, 284
 - sp., 231
- Rhizophora mangle*, 159
- Rhododendron pulchrum*, 253
- Ribose-5-fosfato, família, 80
- Ribosídeo, 213
- Ribosilação, 213
- Ribulose bisfosfato carboxilase/oxigenase, 103
- Ricinus*, 143
 - *communis*, 290
- Ritmos circadianos nas plantas, 331-339
 - características, 331
 - componentes e base molecular do relógio circadiano, 333
 - interação entre o relógio circadiano e o fotoperiodismo, 338
 - terminologia, 331
 - típico, 332
 - características, 331
- Rizóbio
 - adesão às raízes, 55
 - liberação de, 57
 - multiplicação na rizosfera, 53
 - penetração na raiz, 56
- Rizóforos, 412
- Rizosfera da cana-de-açúcar, 53
- Roda do crescimento, 178
- Rhododendron*
 - *pulchrum*, 253
 - *scabrum*, 253
- Rosa rugosa*, 406
- Rosarinus*, 299
- Rubiaceae, 180
- Rubisco, 103, 105
 - ativase, 108

- regulação da, 108
- - modelo, 110
- Rumex*
 - *acetosa*, 293
 - *conglomeratus*, 293
 - *crispus*, 286, 293
 - espécies, 293
 - *obtusifolius*, 293
 - *palustris*, 293
 - *thyriflorus*, 293
- Rutilo, 37

S

- Sabor-aroma, 378
- Sabugueiro, lenticela do caule de, 159
- Sacarose
 - molécula de, 122
 - na seiva do floema, 137
 - no citoplasma, síntese da, 121
 - saída de, 146
 - transporte de, 142
- Sacarose-próton, absorção via simporte, 142
- Saccharum officinarum*, 53
- S-adenosil-metionina, 74
- SAG (*senescence associated genes*), 288
- Salsola ali*, 138
- Salvia*
 - *hispanica*, 397
 - *natans*, 272
- Samambaia, 286
- Samanea*, 328
 - *saman*, 326
- Sambucus*, 159
- Saponinas triterpênicas, 416
- Saturação luminosa, 128
- Sauromatum guttatum*, 301
- Scenedesmus*, 106
- Seca, 284
- Secale cereale*, 346
- Selaginella*, 290
 - *wildenovii*, 272
- Semente(s), 161
 - cereais como modelo de estudos, 243
 - da lavanda, 248
 - de abóbora, 236
 - de plantas de manguezais, 161
 - desenvolvimento da, 384
 - - ácido abscísico no processo, 266
 - - controle, 387
 - - desidratação, 386
 - - etapas do, 385
 - - fases, 385
 - - tolerância à dessecação, 386
 - dessecação da, 391
 - dormência em, quebra de, 247
 - embebição, 391
 - formação da, 363
 - fotoblásticas
 - - controle da germinação de, 314
 - - negativas, 304
 - - positivas, 306
 - germinação de, 311
 - germinante, metabolismo da, 391
- Senescência, 161, 286
 - em plantas superiores, tipos de, 287
 - folicular, retardamento da, 223
 - genes associados a, 288
 - participação do ácido abscísico, 268
- Senna macranthera*, 326
- Sequóia, 18
- Sequoia sempervirens*, 18
- Serina, 78
 - biossíntese de, 79

- molécula do aminoácido de, 112
 - transidroximetilase, 113
 - Sesbania rostrata*, 54
 - Shepherdia*, 53
 - Silício, tetraedros de, 38
 - Simbiose rizóbio-leguminosa, 54
 - Simbiossomo, 57
 - Simplasma (= Simplasto), 138
 - representação do, 139
 - Simplasto (= Simplasma), 11, 16
 - via do, 16
 - Simporte, 42
 - Sinal(is)
 - ambiental, 303
 - de giberelinas, 243
 - - em arroz, 244
 - floral, hipótese sobre a natureza do, 349
 - percepção de, 221
 - transdução de, 221
 - Sinapis alba*, 348
 - Síndrome do desenvolvimento
 - pós-polinização, 362
 - Singleto, 91
 - Sinningia allagophylla*, 409
 - Sinorhizobium*, 54
 - Sintase
 - do acetolactato, 78
 - do antranilato, 77
 - do 3-desoxi-arabino-heptuloseonato, 77
 - do DHAP, 77
 - do diidropicolinato, 74
 - do 2-isopropilmalato, 78
 - Síntese
 - da oxidase do ACC, 373
 - de etileno, 368
 - Sintetase
 - da asparagina, 71
 - da glutamina, 69
 - - reação catalisada pela enzima da, 70
 - de pirrolina-5-carboxilato, 78
 - Sintoma(s)
 - de carência, 47
 - de excesso, 47
 - Sismonastismo, 329
 - Sistema(s)
 - de transporte
 - - de nutrientes das células de plantas, 40
 - - primários e secundários nas membranas plasmáticas, 43
 - ferredoxina/tiorredoxina, 110
 - mutualísticos, 53
 - simbiótico rizóbio-leguminosas, 54
 - Sistemina, 300
 - Smilax sonchifolius*, 413
 - Soja, 56, 57
 - inibição da fotossíntese líquida em, 111
 - Sol, plantas de, 128
 - Solanum*
 - *lycopersicum*, 361, 381
 - *tuberosum*, 108, 160, 409
 - Solo
 - condutividade hidráulica do, 15
 - minerais mais comuns no, 37
 - partícula do, 16
 - Solo-planta, elementos da relação, 36
 - Solvatação, camada de, 4
 - Solvente
 - propriedade de, 4
 - universal, 2
 - Sombra, plantas de, 128
 - Sorbitol, 146
 - Sorghum*
 - *bicolor*, 401
 - *halepense*, 401
 - Spartina* sp., 116
 - Spatodea*
 - *campanulata*, 293
 - *cuspidatum*, 272
 - Spinacia*, 290
 - *oleracea*, 252, 399
 - Spirodella polyrrhiza*, 301
 - Stevia rebaudiana*, 351
 - Stylosanthes*, 56
 - spp., 57
 - Substâncias
 - húmicas, 39
 - químicas, 284
 - Substrato, disponibilidade de, 161
 - Sucrose transporter*, 143
- ## T
- Tabaco, folha de, 148
 - Tachigalia alba*, nódulo de, 59
 - Tangerineiras
 - Ponkan, 254
 - Montenegrina, 254
 - Taxa(s)
 - de respiração celular, 139
 - fotossintéticas de assimilação de CO₂, 125
 - respiratória, 368
 - Tecido(s)
 - infectado, 54
 - respiração nos, 159
 - secretores, 290
 - Temperatura, 23, 30, 45, 163, 231, 332, 345
 - faixa fisiológica de, 332
 - Tempo
 - circadiano, 332
 - de apresentação, 323
 - de reação, 323
 - Tensão superficial, 5
 - da água, 19
 - Teoria(s)
 - da coesão, 19
 - de Cholodny-Went, 319
 - de Munch, 193
 - quântica, 90
 - quimiosmótica, 188
 - tensão, 19
 - Termonastia, 319
 - Termonastismo, 326
 - Terpenóides, via biossintética, 238
 - Teste de curvatura do coleóptilo de aveia, 183
 - Tetraedros de silício, 38
 - Tetraidrofolato, 113
 - Theobroma cacao*, 232
 - Tigmonastia, 319
 - Tigmonastismo, 328
 - Tigmotropismo, 319
 - Tilacóides, 287
 - do estroma, 88
 - dos grana, 88
 - membrana(s) do(s), 99
 - - complexo(s)
 - - - FSI na, 98
 - - - FSII na, 97
 - - - supramoleculares nas, 102
 - Tillandsia recurvata*, 198, 214
 - Tiririca, 115, 401
 - Tirosina, biossintese do, 76
 - Tomate
 - desenvolvimento de frutos de, 367
 - frutificação e maturação de frutos de, 361
 - mutante *not* de, 267
 - Tomateiro
 - com a mutação gib-2/gib, 250
 - mutantes de, 202
 - Tonoplasto, 41
 - Transcrição gênica, 247
 - Transdução, 208, 318
 - de sinal, 221
 - Transpiração, 21-25
 - circular, 23
 - estomática, 23
 - Transporte
 - cíclico de elétrons, 100
 - de elétrons, 101
 - de íons, 163
 - de sacarose, 142
 - eletrogênico, 143
 - fonte-dreno, 147
 - intermediário, 140
 - no floema, 134-149
 - - carregamento e descarregamento do floema, 140
 - - - visão geral do, 143
 - - células companheiras, 136
 - - constituição dos elementos crivados, 136
 - - fonte-dreno, transporte, 147
 - - o que é transportado, 145
 - - saída de sacarose, 146
 - - via(s)
 - - - apoplástica, 137
 - - - simplástica, 137
 - - - visão geral do sistema de, 134
 - Traqueídeos, 17
 - Tremoço, 255
 - Treonina, 74
 - biossintese, 75
 - desidratase da, 74
 - Trichomanes speciosum*, 272
 - Trigo, 53
 - Triptofano, biossintese, 76
 - Triticum* sp., 53
 - Tropaeolum majus*, 349
 - Tropismos, 318, 319
 - Tubérculos e raízes, produção mundial, 418
 - Tuberização, 409-419
 - de batata, indução de, 410
 - importância econômica dos órgãos tuberosos, 417
 - iniciação da, controle, 410
 - metabolismo dos carboidratos em órgãos tuberosos, 414
 - Tubo(s)
 - crivados, elementos dos, 134, 224
 - de infecção, 55
 - Tulipa, 346, 409
 - Turgidez, 1
 - Turmalina, 37
- ## U
- Ullucus tuberosus*, 414
 - Ulmaceae, 54, 56
 - Umbrófitas, 314
 - Umidade, 45, 346
 - relativa, 1, 23
 - Uniporte, 42, 142
 - Ureídos, 72
 - Uricase, 55
- ## V
- Vaccinium angustifolium*, 362
 - Valina, 78
 - biossintese de, 79
 - Van der Waals, força de, 2
 - Vanda*, 351
 - Vaso crivado, retículo do, 136
 - Vassoura-de-bruxa, 232

- Vegetais
- como um todo, dinâmica das citocininas nos, 214
 - - biossíntese, 214
 - - conjugação, 216
 - - hidrólise, 216
 - - oxidação, 218
 - - transporte, 220
 - macroelementos dos, funções, 48
 - microelementos dos, funções, 48
- Vernalização, 231
- Vernonia herbacea*, 412, 416
- Verticilos, 359
- Via(s)
- alternativa de transporte de elétrons, 156
 - apoplástica, 137
 - simplástica, 137
 - transmembrana, 16
 - ubiquinona, 156
- Vicia faba*, 137
- potássio em células-guardas de estômatos de, 28
- Victoria amazonica*, 160, 326
- Videira, 342
- Vigna*
- *radiata*, 292
 - - estacas de, efeito da aplicação de ACC, 292
 - *unguiculata*, 24
- Vinca*, 292, 397
- Visão, espectro eletromagnético da, 89
- Vitis vinifera*, 253, 342
- Viviparidade, 255
- W**
- Warburg, efeito, 110
- Wolffia microscopica*, 301
- Wooden leg*, mutação, 222
- X**
- Xanthium*, 67, 348
- *strumarium*, 342, 349, 350
- Xantofilas, 94, 376
- clivagem das, 258
 - síntese das, 258
- Xilema, 16, 196
- movimento ascendente de água no, 17
- Xiloglucano, 167
- endo-transglicosilase (XET), 173
- Y**
- Yacón (*Smilax sonchifolius*), 413
- Z**
- Zantedeschia aethiopica*, folhas, 253
- Zea mays*, 53, 129, 186, 212, 305
- Zeatina, 232
- Zeaxantina, 31, 94
- Zeitgebers, 332
- sinais, 332
- Zeta, valores em ambientes abertos, 314
- Zinco, 35
- deficiência de, 49
- Zinnia elegans*, 197, 296
- mesófilo de, 198
- Zircão, 37
- Zoocoria, 358



A marca FSC é a garantia de que a madeira utilizada na fabricação do papel com o qual este livro foi impresso provém de florestas gerenciadas, observando-se rigorosos critérios sociais e ambientais e de sustentabilidade.

Serviços de impressão e acabamento executados, a partir de arquivos digitais fornecidos, nas oficinas gráficas da EDITORA SANTUÁRIO
Fone: (0XX12) 3104-2000 - Fax (0XX12) 3104-2016
<http://www.editorasantuario.com.br> - Aparecida-SP

