

Fisiologia Vegetal

Sebenta de Apoio às Apresentações

Desenvolvimento e estrutura das plantas

Os meristemas são reservatórios de células indiferenciadas que acrescentam órgãos à planta, apresenta um crescimento contínuo, repetitivo no que diz respeito à produção de estruturas e ainda a plasticidade decorrente da sua totipotência.

O facto das plantas não apresentarem mobilidade leva-as a assumirem uma anatomia rígida em que as células estão dedicadas a capturar energia luminosas e nutrientes essenciais. Estas estão firmemente ligadas às células vizinhas, resultam da atividade dos meristemas, possuem uma organização simples e o seu crescimento é fruto de uma adaptação ao ambiente. Por isso se diz que a anatomia e o crescimento das plantas é mais dependente do meio que as rodeia do que o próprio material genético que as constitui.

Crescimento das plantas

Os meristemas correspondem às zonas embrionárias da planta onde a divisão de uma célula em duas leva a formação de uma célula meristemática e uma outra que se diferencia. Os meristemas podem ser classificados em dois grandes grupos consoante a sua posição na planta e respectiva atividade:

- Os **apicais** estão localizados nas extremidades de raízes e caules e são constituídos pela **protoderme** (camada exterior do meristema apical que dá origem à epiderme das folhas, caule e raízes jovens – resultante do crescimento I); **procâmbio** (camada do meristema apical que dá origem ao xilema e floema primários e ao câmbio vascular que origina mais tarde os xilema e floema secundários; **meristema fundamental**.
 - Estes são ainda responsáveis pelo alongamento (constituindo assim o crescimento primário) de caules e raízes;
 - Levam à formação de novos órgãos — folhas e estruturas reprodutoras no meristema caulinar;
 - Permitem responder às condições ambientais.
- Os **laterais** provocam o engrossamento (constituindo o crescimento secundário) de raízes e caules e levam à formação de câmbio vascular e felogénio.

Crescimento primário

O crescimento primário é caracterizado por um crescimento em altura e resulta, como já foi referido, da atividade dos sistemas meristemáticos I (apicais). A protoderme origina a epiderme do caule, raiz e folhas. O procâmbio é responsável pela formação dos tecidos vasculares primários. O meristema fundamental leva à formação dos tecidos fundamentais.

Crescimento secundário

Este outro tipo de crescimento é responsável pelas épocas de crescimento posteriores e que acontecem sucessivamente. Resulta então da atividade do meristema II (laterais) e leva ao aumento do diâmetro dos caules e raízes. Existe em todas as Gimnoespérmicas (exemplo são as coníferas como o pinheiro), na maioria das Dicotiledóneas e raramente nas Monocotiledóneas.

O **câmbio vascular** resulta do procâmbio e das células do parênquima interno que retém a capacidade de divisão. Este é ainda responsável pela formação do Xilema II e Floema II. Os anéis de crescimento que se formam anualmente resultam precisamente do câmbio vascular.

O **felogénio** resultada da atividade do parênquima do córtex exterior (imediatamente a seguir à epiderme). Este produz felema para o exterior e feloderme para o interior. O conjunto do felema, felogénio e feloderme formam a periderme. Isto constitui o revestimento do corpo da planta II (resultante do crescimento II).

Tecidos Vegetais

- O **Sistema Dérmico** reveste o corpo da planta que a protege das agressões externas e da perda de água.
 - A **epiderme** é a camada mais exterior que reveste o corpo I da planta e pode ser simples ou múltipla.
 - A **periderme** substitui a epiderme nas plantas lenhosas.
 - A **cutícula** restringe a transpiração.
 - Os **estomas** são os mediadores das trocas gasosas.
 - Os **pêlos radiculares** são prolongamentos celulares para a absorção de água por parte da raiz.
 - Os **tricomos** ou **pêlos epidérmicos** são prolongamentos de células epidérmicas para o exterior com o intuito de defesa.
- O **Sistema Vascular** (sistema de condução) que é constituído pelo xilema (“vaso” condutor da água e dos sais minerais desde a raiz até às folhas) e pelo floema (responsável pela condução dos fotossíntezados produzidos).
- O **Sistema Fundamental** têm a função de suportar, sintetizar e armazenar os elementos essenciais à sobrevivência e crescimento da planta. Constituída pelo parênquima, colênquima e esclerênquima.
 - O **parênquima** é constituído por células vivas com paredes celulósicas e pouco espessas que apresentam grande plasticidade fisiológica. Apresentam ainda a capacidade de rejuvenescimento e ainda possuem várias formas e desempenham diversas funções. Ocupam grandes áreas como a medula (tecido fundamental mais interno nos caules), o córtex (tecido fundamental mais externo) e o mesófilo.
 - O **colênquima** constitui as paredes I com espessamento de hemicelulose e pectina desigualmente distribuído. Este apresentam-se com alguma frequência em tecidos jovens ou tecidos traumatizados. Constitui ainda tecido de suporte que reforçam folhas e caules. O colênquima é um tecido vivo mas é efêmero.
 - O **esclerênquima** constitui as paredes II com espessamento de lenhina uniformemente distribuídos e é ainda um tecido de suporte por excelência. O esclerênquima é constituído por fibras e escleréides. Localiza-se em tecidos sem crescimento ativo e é geralmente formado por células mortas. Pode aparecer como células isoladas.

Estruturas dos órgãos da planta

Estrutura da raiz

A estrutura I de uma raiz é caracterizada por feixes vasculares simples e alternos com diferenciação centrípeta. Com o crescimento a raiz adota a estrutura II em que perde todo o córtex e epiderme, passando a ser constituída por periciclo, floema, câmbio vascular e xilema (de fora para dentro da raíz).

Estrutura do caule

A estrutura do caule I é caracterizada por feixes vasculares duplos como disposição centrífuga em que o xilema aparece na zona mais medulas e o floema na zona mais exterior. Na estrutura II do caule os feixes fundem-se e formam camadas concêntricas em que o floema se apresenta exteriormente ao xilema separados pelo câmbio vascular. Com o passar dos anos e o envelhecimento da planta vão aparecendo novos vasos xilémicos interiores que substituem os anteriores e provocam a sua inatividade.

Estrutura da folha

A folha é constituída por um mesófilo que está diferenciado em parênquima em paliçada (voltado para cima) e esponjoso (voltado para baixo). É revestida pela epiderme superiores ou adaxial ou ventral e pela epiderme inferior ou abaxial ou dorsal. A cutícula reveste toda a superfície da folha e controla a transpiração da planta. A folha é ainda atravessada por nervuras constituídas por feixes vasculares envolvidos na bainha perivascular. Na folha existem umas estruturas designadas de estomas que são responsáveis pelas trocas gasosas. A folha geralmente apresenta apenas crescimento I, visto que não tende a aumentar em "largura". Nas folhas o xilema é sempre voltado para cima e o floema voltado para baixo, visto que as folhas surgem de um caule, então como funcional como um prolongamento dos tecidos vasculares caulinares, o floema por estar mais no exterior irá ficar na parte inferior da folha, ao contrário do que acontece com o xilema. O mesófilo pode ainda ser bifacial se tiver uma camada de parênquima em paliçada (voltado para cima) e uma camada de parênquima esponjoso (voltado para baixo); pode ser ainda unifacial, possuindo duas camadas de parênquima em paliçada voltado para ambos os lados da folha e apresentar parênquima esponjoso no meio; pode ainda haver parênquima indiferenciado.

Relações hídricas nas Plantas

As plantas necessitam de mecanismos para equilibrar a entrada e saída de água — fluxo contínuo ao longo da planta. Cerca de 80% a 95% da massa de uma planta é constituída por água. Este é portanto o principal fator limitador do crescimento vegetal — produtividade agrícola, por exemplo.

A fotossíntese e transpiração são mecanismos nos quais a planta perde água, esta perda de água é essencial para os processos fisiológicos da planta.

No entanto existem adaptações da planta para minimizarem a perda de água por transpiração de modo a evitar desidratação. Dentro das **adaptações estruturais** temos o espessamento da cutícula e o desenvolvimento de espinhos que diminuem a perda de água por transpiração. A localização de estomas em cavidades e na página inferior para minimizar perda de água, pois quando colocados em cavidades, uma pequena quantidade de água na cavidade leva a um aumento da pressão de água nessa mesma cavidade, levando a uma diminuição na taxa de perda de água pelos estomas.

A existência de tricomas brancos impede que a planta eleve a sua temperatura e aumento a sua taxa de transpiração, pois o facto de serem brancos refletem mais radiação.

O enrolamento das folhas aquando de situações de pouca água leva a uma menor perda de água porque a área de superfície com o meio exterior fica muito reduzida. Isto acontece à custa das células boliformes que quando há pouca água ficam plasmolisadas a folha enrola, caso contrário, a entrada de água nestas células faz com que estas dilatam e a folha abra.

Existem ainda **adaptações fisiológicas** como a abscisão foliar (queda de folhas que leva à diminuição da perda de água, visto que esta acontece principalmente ao nível das folhas); posição foliar em que a orientação da folha varia em relação ao sol (condições de luminosidade) para estabelecer um equilíbrio entre as necessidade fotossintéticas e a perda de água. O levar a cabo de outros tipos de fotossíntese para além da “normal” (C3) como a C4 e CAM; o estabelecer de ritmos circadianos de abertura dos estomas e que são apenas controlados por mecanismos endógenos; a produção da fito-hormona ABA (ácido abscísico) leva à perda de folhas por parte da planta para que esta possa entrar num estado de latência que facilite a resistência a uma situação de seca extrema.

Propriedades da água e sua importância na Fisiologia da Planta

A molécula da água possui uma estrutura polares e estabelece pontes de hidrogénio entre si o que lhe confere propriedades específicas que tornam os seus mecanismos tão importantes para as plantas.

- Excelente solvente polar que permite o transporte de sais minerais, fotoassimilados e outras moléculas orgânicas e é responsável pela formação das camadas bifosfolipídicas das membranas. A água é ainda responsável pelo conformação de algumas proteínas, ácidos nucleícos e polissacarídeos.
- Molécula muito reativa porque é o meio onde ocorrem muitas das reações bioquímicas, participando ativamente em muitas delas.

- A água possui elevada capacidade térmica mássica que ajuda a manter a temperatura da planta, porque elevadas variações de energia levam a pequenas flutuações de temperatura.
- O alto calor latente de evaporação ajuda a planta a arrefecer, porque a água que evapora à custa da absorção de elevadas quantidades de energia térmica.
- A água possui ainda propriedades de adesão e coesão que justificam a elevada tensão superficial e capilaridade deste solvente. Isto permite que a água ascenda no xilema e é importante no processo de evaporação.
- A elevada força de tenção mantém a coluna de água no xilema bastante resistente (evitando assim a sua ruptura).
- O facto de a água não ser compressível permite o desenvolvimento da pressão de turgescência. O crescimento celular, a abertura e fecho dos estomas, a translocação floémica e a rigidez do corpo da planta são algumas das características que o facto da água não ser compressível.

Processos de transporte de água

O movimento da água é sempre um fenómeno passivo (não se dá à custa do consumo de energia), este pode ocorrer por difusão, fluxo em massa ou osmose. Note-se que os movimentos de água são dinâmicos e mesmo quando se atinge o equilíbrio o movimento continua a acontecer, no entanto acontece à mesma taxa em ambos os sentidos.

Difusão

A **difusão** é um movimento de água que responde a uma gradiente de concentração que é estabelecido entre duas zonas distintas. Este mecanismo é efetivo e viável ao nível celular, no entanto é muito lento para transporte a longa distância. Este mecanismo não explica a ascensão da água no xilema em plantas altas.

Fluxo em massa

O **fluxo em massa** é mais um dos tipos de movimentos que a água pode efetuar e recorre ao movimento concertado de um determinado grupo de moléculas em resposta a um gradiente de pressão. Este movimento ocorre apenas à custa do gradiente de pressão, sendo portanto independente do gradiente de concentração. Este movimento explica a ascensão de água no xilema de plantas altas, a translocação floémica e o movimento de água no solo. O fluxo em massa é proporcional ao raio do tubo capilar e portanto a evolução foi no sentido do aumento do crescimento secundário e a substituição dos traquéides por elementos de vaso.

Osmose

A **osmose** é um movimento de água que responde a um gradiente de potencial de água. Isto é, este movimento ocorre numa determinada direção e velocidade definidas pela soma dos gradientes de concentração (difusão) e gradiente de pressão (fluxo em massa). O **potencial de água** é uma medida

associada às moléculas de água por unidade de volume ocupado, portanto aparece em $\text{J}\cdot\text{m}^{-3}$ que é equivalente a MPa (unidade de pressão). O potencial de água ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}}$) depende da concentração (potencial osmótico — Ψ_s), da pressão hidrostática (Ψ_p) e da gravidade (Ψ_g) — $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$. A água move-se por osmose do potencial de água mais alto para o potencial de água mais baixo. Por defeito a água pura (estado padrão — Temperatura e pressão ambientes) apresenta um potencial de água de 0MPa.

O **potencial osmótico** é independente da natureza dos solutos. Os solutos em dissolvidos diminuem o potencial osmótico relativamente ao valor da água pura. Portanto o potencial osmótico na células será negativo devido à presença de solutos. $\Psi_s = -RTC$.

O **potencial de pressão** define o estado de turgidez ou plasmólise de uma célula e o valor zero é tomado para a água no estado padrão em espaço aberto. Quando uma célula está túrgida a sua pressão hidrostática é positiva. O potencial de pressão pode ser negativo no xilema — tensão.

A **gravidade** depende da altura da água acima do nível de referência (nível médio da água do mar) e causa o movimento descendente da água. No transporte de água a nível das células a componente gravidade é desprezada para alturas inferiores a 10m.

Conceito de potencial de água

O **conceito de potencial de água** é extremamente importante porque regula o transporte através das membranas e permite avaliar o estado hídrico da planta. Em analogia com os animais, o potencial de água tem a mesma importância que a temperatura corporal tem para os animais. O potencial de água controla a fotossíntese e o crescimento celular. O potencial de água é o ideal em valores compreendidos entre 0 e 0,8 MPa. Assim como o potencial de água tem valores ótimos, as suas componentes também apresentam valores ótimos para a planta. A **pressão osmótica** deverá estar compreendida entre -0,5 e -1,2 MPa quando bem regadas, podendo atingir -2,5MPa nas células que acumulam solutos. Em situação de obscuridade as células apresentam menores potenciais osmóticos frutos da acumulação de solutos. As plantas halófitas apresentam baixos potenciais osmóticos para que seja possível extrair água de solos salgados, isto porque para isso acontecer terá de ser à custa de um menor potencial osmótico no interior das células. O **potencial de pressão** pode apresentar valores entre 0,1 e 1,0 MPa em plantas bem regadas. Quando o **potencial de água** do solo é igual ou inferior ao **potencial osmótico** da planta tem-se um caso de emurchecimento que depende da espécie vegetal e do tipo de solo. Este se passar um certo limite pode ser permanente, caso não quando se voltar a estabelecer um potencial de água do solo superior o emurchecimento reverte.

Movimento de água entre células

O movimento de água entre as células pode ocorrer através da camada bilipídica ou então através de proteínas específicas, as aquoporinas. Nas células vegetais a pressão hidrostática também contribui para o movimento da água, ao contrário do que acontece nas células animais, em que o movimento de água se dá apenas à custa dos gradientes de concentração. Pequenas alterações no volume da célula repercute grandes alterações na pressão de turgescência e

consequentemente no potencial de água. Isto acontece à custa de pequenas alterações no potencial osmótico.

Movimento de água no solo

A água no solo move-se até à superfície da raiz por fluxo em massa em resposta a gradientes de pressão. Este fluxo em massa que se estabelece no solo depende não só do gradiente de pressão que se estabelece como também da condutividade hidráulica do solo (permeabilidade do solo). A absorção de água pelo sistema radicular das plantas gera uma tensão superficial (pressão negativa no solo junto às raízes).

Absorção de água pelas raízes

A água é absorvida pela células da raiz da planta a favor do gradiente de potencial de água (osmose), posteriormente a água move-se no interior da raiz por gradiente de potencial osmótico ou de pressão (fluxo em massa). A água pode entrar pelo sistema radicular da planta e chegar à endoderme por 3 processos possíveis,

- **Via apoplástica** (transporte em massa) em que a água se move exclusivamente através dos espaços entre a parede e a membrana celular e algum espaço intercelular nos tecidos vegetais que constituem todo o sistema radicular;
- **Via transmembranar** (osmose) em que a água segue sequencialmente atravessando células lado a lado, sendo que a água atravessa sempre duas vezes a membrana por cada célula (durante a entrada em uma célula e a respectiva saída);
- **Via simplástica** (transporte em massa) ocorre quando a água se movimento de célula em célula atravessando os plasmodesmos que são ligações entre vários citoplasmos que atravessam a parede celular.

Quando na endoderme a água é impedida de prosseguir pela banda de Caspary que impede a entrada de água via apoplasto e obriga a passagem através da membrana celular. Isto contribui para uma entrada seletiva na raiz. Assim a partir da endoderme a água continua o seu percurso por simplasto ao invés da via apoplástica.

Transporte de água através do xilema

O xilema é o tecido principal de transporte de água e é caracterizado por possuir paredes secundárias lenhificadas. Este pode classificar-se de Xilema I e Xilema II.

Xilema I

Este subtipo de xilema diferencia-se e forma-se durante a formação do corpo I da planta e tem origem no tecido meristemático procâmbio. Todas as células possuem orientação axial, ou seja, paralelamente ao eixo maior da planta. O xilema do tipo I pode dividir-se em protoxilema e metaxilema. O protoxilema constitui vasos mais simples que o metaxilema e forma-se em primeiro lugar. Este depois acaba por diferenciar-se levando à formação do metaxilema.

Xilema II

O xilema do tipo II é produzido durante o crescimento secundário da planta e tem origem no câmbio vascular. Este tipo de xilema está ausente nas monocotiledóneas e algumas dicotiledóneas anuais. Este tipo de xilema possui células nas duas orientações possíveis, axial e radial. São produzidas novas células de xilema todos os anos e é daí que surgem os anéis de crescimento presente na maioria das plantas.

O xilema é então um tecido complexo que possui várias células com funções diferentes. Os elementos de vaso nas angiospérmicas com a função de condução e os traquéides com a mesma função em todas as outras (sistema de condução mais primitivo). As fibras liberiformes e os fibrotraquéides tem a função de suporte em quanto que as células de parênquima (axial e radial) funcional como células de armazenamento. Todas as células do xilema são mortas à exceção das que constituem o parênquima. Os traquéides por possuírem parede nos topos das células não permite a fácil passagem da seiva bruta, ao contrário do que acontece com os elementos de vaso que se encontram nas angiospérmicas.

Como é feito o transporte de águas através do xilema?

O gradiente de pressão hidrostática é a força motriz para este movimento, portanto trata-se de um movimento em fluxo de massa como já foi mencionado. O gradiente de pressão hidrostática é gerado à custa de uma tensão criada nas folhas — pressão negativa. Isto vai originar a entrada de solutos no xilema que desencadeia uma diminuição do potencial de água nas células da raiz, fazendo com que a água entre por osmose para o sistema radicular da planta.

Existem, no entanto, casos em que se cria uma positiva na raiz, e que leva à formação de fenómenos como a gutação (exudação da seiva floémica). Contudo esta pressão positiva criada não consegue explicar a ascensão de água numa árvore.

Teoria da Coesão-Tensão

Esta teoria procura essencialmente explicar a subida da seiva xilémica, especialmente nas árvores. Esta teoria baseia-se em princípios físicos da água, no mecanismo de transporte de líquidos e nas propriedades anatómicas do xilema. Nas folhas, à custa da transpiração (perda de água) forma-se uma tensão (pressão hidrostática negativa) no xilema. As propriedades coesivas e a elevada força de tensão da água permite o estabelecimento de uma coluna de água que é capaz de resistir à pressão desenvolvida e ascender pelo xilema. As paredes lenhificadas e espessas do xilema impedem o colapso das mesmas que poderia acontecer devido às forças pressões criadas. A água sai da planta nas folhas através dos estomas que permitem as trocas gasosas com o meio ambiente. A planta perde ainda água por um processo de evaporação de água da superfície do mesófilo, em que a água é puxada para os interstícios devido às propriedades de adesão da água. Devido à elevada tensão superficial da água que se estabelece à custa da evaporação o raio de curvatura da superfície ar-água diminui.

Cavitação ou Embolia

A **cavitação** é um fenómeno no qual entram bolhas de ar no xilema criando assim uma zona de descontinuidade que impede o seu transporte. Quando isto acontece, a planta tem mecanismos para resolver esse problema como o desvio da água para traquéides ou vasos adjacentes; as bolhas de ar podem ser eliminadas do xilema pela pressão radicular durante a noite; ou então novos vasos ou traquéides que substituem os obstruídos.

Transpiração

A **transpiração** é o mecanismo pelo qual as plantas perdem água existente nos espaços intercelulares para a atmosfera, através dos estomas. O movimento de água é feito por difusão e depende do gradiente de concentração e das resistências impostas pelo seu percurso. O gradiente de concentração de vapor de água é calculado pela diferença de concentração de vapor de água na folha pela concentração de vapor de água no ar. A resistência ao percurso é oferecida pelos estomas e pelo ar estacionário que se encontra junto à superfície foliar. Isto depende da velocidade do vento e da morfologia da planta.

Estomas

Os estomas são as estruturas que regulam as trocas gasosas entre a planta e o meio exterior. Estas estruturas são ainda responsáveis pela optimização na fixação de CO₂ e minimizam as perdas de água por transpiração.

Em climas húmidos desenvolve-se principalmente a **fotossíntese do tipo C3** (dita normal) em que os estomas estão abertos durante o dia e fechados durante noite. Existem ainda outros tipos de fotossíntese, a **C4** e **CAM**. A fotossíntese C4 é responsável pela abertura dos estomas durante o dia e fecho durante o dia mas em que existe uma separação espacial entre a fixação de dióxido de carbono e a sua descarboxilação. A CAM é o sistema de fotossíntese em que os estomas estão fechados durante o dia e abertos durante a noite, e em que existe separação espacial e temporal entre a fixação e a descarboxilação do dióxido de carbono.

A pepcarboxilase é a enzima responsável por fixar o CO₂ no mesófilo.

A taxa de transpiração é a razão entre a perda de água e o ganho de dióxido de carbono, sendo que quanto menor for este valor, mais eficaz é o uso de água. Sendo assim, e por ordem crescente, a fotossíntese C3 é menos eficaz, seguida da C4 e depois a CAM.

Células de Guarda

A abertura e fecho dos **estomas** é feita à custa de duas células epidérmicas, as células de guarda ou oclusivas, podendo ter ou não o acompanhamento de células subsidiárias. No seu conjunto formam o **complexo estomático**. As **células de guarda** apresentam uns prolongamentos de cutícula que faz com que haja um fecho prévio do estoma aquando do seu fecho e uma abertura prévia em caso contrário.

As células de guarda são caracterizadas por um desigual espessamento da parede célula em que esta se apresenta mais espessa dos lados interior e exterior, para que a quando das variações da pressão de turgescência a célula possa apresentar diferentes formas, fazendo com que assim seja possível abrir e fechar o poro.

Funcionamento dos Estomas

Sinais externos, como a intensidade e qualidade luminosa, a temperatura, a humidade relativa e a concentração intercelular de CO₂ são alguns dos mecanismos externos que levam à resposta por parte do estoma. As células de guarda têm a percepção destes sinais e efetuam uma resposta a esse estímulo.

O que acontece, aquando da abertura do estoma, é que há uma acumulação de solutos nas células de guarda que leva a uma diminuição do potencial osmótico e conseqüentemente a uma diminuição no potencial de água dentro das células de guarda. Isto faz com que haja a entrada de água nas células de guarda e haja o aumento da pressão de turgescência (aumento de volume da célula). O aumento do volume destas células leva à abertura do estoma.

Este movimento de solutos para diminuição da pressão osmótica é feito à custa do transporte transmembranar que requer energia por ser efetuado contra o gradiente. A concentração de catiões potássio aumenta de 100mM para 400-800mM quando o estoma passa de fechado para aberto. Este transporte é feito através de mecanismos regulados pela voltagem estabelecida por protões e

entram por canais seletivos. Este movimento resultam indiretamente de um movimento de protões contra gradiente à custa de ATP através da ATPase.

O cloreto é transportado para dentro das células de guarda por simporte com protões aquando da abertura dos estomas, este mecanismo também ocorre à custa do prévio gradiente de carga criado pela ATPase.

O malato por sua vez é sintetizado no citoplasma das células de guarda e transportado para o vacúolo durante a abertura dos estomas. A síntese deste anião é dependente da luz vermelha.

Fluxo de iões durante o movimento estomático

1. A ATPase, à custa de ATP, bomba protões para fora da célula de guarda.
2. Devido ao gradiente de carga criado, os K^+ entram na célula por transporte passivo à custa do gradiente de concentração.
3. O H^+ entre por simporte, juntamente com o Cl^- , à custa do gradiente de concentração de H^+ estabelecido em 1.
4. A pepcboxilase fixa o dióxido de carbono e forma aniões malato.
5. A ATPase, à custa de ATP, bomba protões para dentro do vacúolo da célula de guarda.
6. Os aniões cloreto entram no vacúolo por transporte passivo à custa da diferença de carga.
7. O malato entre por antiporte com protões.
8. O K^+ entra por antiporte com protões.

Todos estes movimentos de solutos aumentam o potencial osmótico e levam a um aumento da pressão de turgescência e do volume da célula pelo que o estoma abre.

Quando o estoma fecha, todos os solutos saem da célula de guarda. Note-se que o malato é catabolizado e excretado.

A **sacarose** também é um soluto osmoticamente ativo, visto que o teor de K^+ apenas explica o aumento inicial da abertura estomática, a partir da tarde a concentração de K^+ diminui e os estomas continuam a abrir. Isto acontece à custa da sacarose que se vai formando lentamente durante a manhã e que quando em concentração relativamente elevada assume um papel importante na osmótica dos estomas. O decréscimo na concentração de sacarose explica o fecho do estomas progressivo durante a tarde até à noite. A sacarose é obtida pelas células de guarda pela hidrólise de amido, pela fotossíntese das células de guarda e pela sua entrada proveniente das células do mesófilo.

Influência da luz no funcionamento estomático

A **luz vermelha** é essencial e dominante no controlo de abertura e fecho estomáticos. O inibidor da fotossíntese (DCMU) inibe parcialmente a abertura estomática estimulada pela luz. A **luz vermelha** atua ao nível da estimulação da fotossíntese que leva à diminuição da concentração de CO_2 e à síntese de sacarose, aspectos estes que contribuem para a abertura dos estomas. Existe ainda um fotoreceptor não fotossintético que recebe a luz azul e que medeia o aumento adicional na abertura estomática. Este último é substancialmente mais rápido e eficiente.

A **luz azul** provoca o aumento do volume de protoplastos nas células de guarda o que estimula a entrada de iões e água; acidifica o meio de suspensão dos protoplastos nas células de guarda. No fundo, a luz azul tem um efeito semelhante às fusicocinas que ativam as H⁺-ATPases. O efeito da luz azul é ainda inibido pela presença de vanadato.

Em suma temos a luz vermelha que é responsável pelo acumular de sacarose e a luz azul que acumula K⁺ e aniões malato.

Fotoreceptores da luz azul

A **zeaxantina** é um carotenóide existente nas células dos mesófilo que é responsável pela proteção contra o excesso de radiação. Este carotenóide é ainda encontrado nas células estomáticas sendo portanto considerado por alguns autores como um receptor de luz azul.

As concentrações de **zeaxantina** nas células de guarda é bastante superior às das restantes células do mesófilo e variam a sua concentração ao longo do dia como se em resposta à incidência de radiação fotossinteticamente ativa. Para além disso, e como em resposta à radiação fotossinteticamente ativa, apresentam ainda uma correlação direta com a abertura dos estomas ao longo do dia. Existem algumas constatações que permitem precisamente corroborar esta teoria, como o facto do espectro de absorção da zeaxantina coincidir com a zona azul do espectro. O facto da sensibilidade das células de guarda à luz azul aumentar com o aumento da concentração de zeaxantina é mais uma prova disso mesmo. Verifica-se ainda quando se inibe a síntese de zeaxantinas o estímulo à luz azul também é inibido. A mutação de estomas que não conseguem acumular zeaxantina também não apresentam resposta à luz azul.

A **fototropina (PHOT)** é um receptor de luz azul que interfere em vários processos fisiológicos e é codificado por dois genes PHOT1 e PHOT2. O espectro de absorção deste fotoreceptor coincide com o espectro de abertura dos estomas. Os estomas que não possuem fototropina não respondem à luz azul, apesar de continuarem a ser fotossinteticamente ativos. Nestes mesmo estomas sem fototropina não ocorre a saída de H⁺ em resposta à radiação azul. As fototropinas aparecem antes na cascata de reações que levam a luz azul à abertura dos estomas. Assim parece que a fototropina será o receptor para a luz azul.

Existe ainda o fenómeno de reversão dos estímulos de luz, por exemplo, um pulso de luz azul é revertido por um pulso consecutivo de luz verde. No entanto, se voltarmos a submeter o estoma a um pulso de luz azul ele volta a abrir. No entanto, esta reversibilidade não acontece em mutantes sem zeaxantina, mas ocorre em mutantes sem fototropina. Isto leva-nos a concluir que existe um papel ativo das zeaxantinas. Esta reversibilidade tem haver com a alteração da isomeria da zeaxantina, passando de trans a cis quando sujeitos a luz azul e voltam a trans se sujeitos a um pulso de luz verde. Sendo assim conclui-se que a zeaxantina é importante na resposta dos estomas à luz azul, mas não parece ser um fotoreceptor.

Regulação da concentração de CO₂

As células de guarda reagem a variações na concentração de CO₂ na câmara estomática. Uma redução do nível de CO₂ na câmara estomática leva a uma abertura do estoma que permita a entrada do mesmo. Processo simétrico acontece em caso de excesso de CO₂ nas câmaras estomáticas. O estoma reage e desencadeia as suas funções de modo a manter um fluxo constante de CO₂. Os níveis de dióxido de carbono regulam atividade dos canais de aniões através da membrana celular, sendo que quando há elevada concentração os estomas fecham. As respostas das células estomáticas à luz vermelhas (que permitia o armazenar de sacarose e síntese de malato) parece ser mediada pelos níveis de dióxido de carbono intracelulares.

Regulação pelo Humidade

As alterações da **humidade relativa** do ar leva a alterações na pressão de turgescência das células de guarda, levando assim à abertura ou fecho dos estomas. A **síntese de ABA (ácido abscísico)** controla a atividade estomática por duas vias, uma dependente e outra independente da concentração de Ca²⁺. Esta síntese induz a ativação dos canais de saída de aniões que fecham os estomas e a diminuição da atividade da H⁺-ATPase que leva à saída dos cations potássio. Este mecanismo atua em duas fases, uma em que provoca o fecho dos estomas e uma outra que impede a re-abertura.

O ciclo de abertura e fecho dos estomas continua mesmo em situações de contínua obscuridade ou luminosidade, isto à custa dos ritmos circadianos que controlam então a ação estomática. No entanto, os ritmos circadianos não deixam de ser sincronizados pela luz. A presença de ritmos circadianos na planta aumenta a eficiência com que esta utiliza a água, pois permite antecipar a resposta aos fatores abióticos.