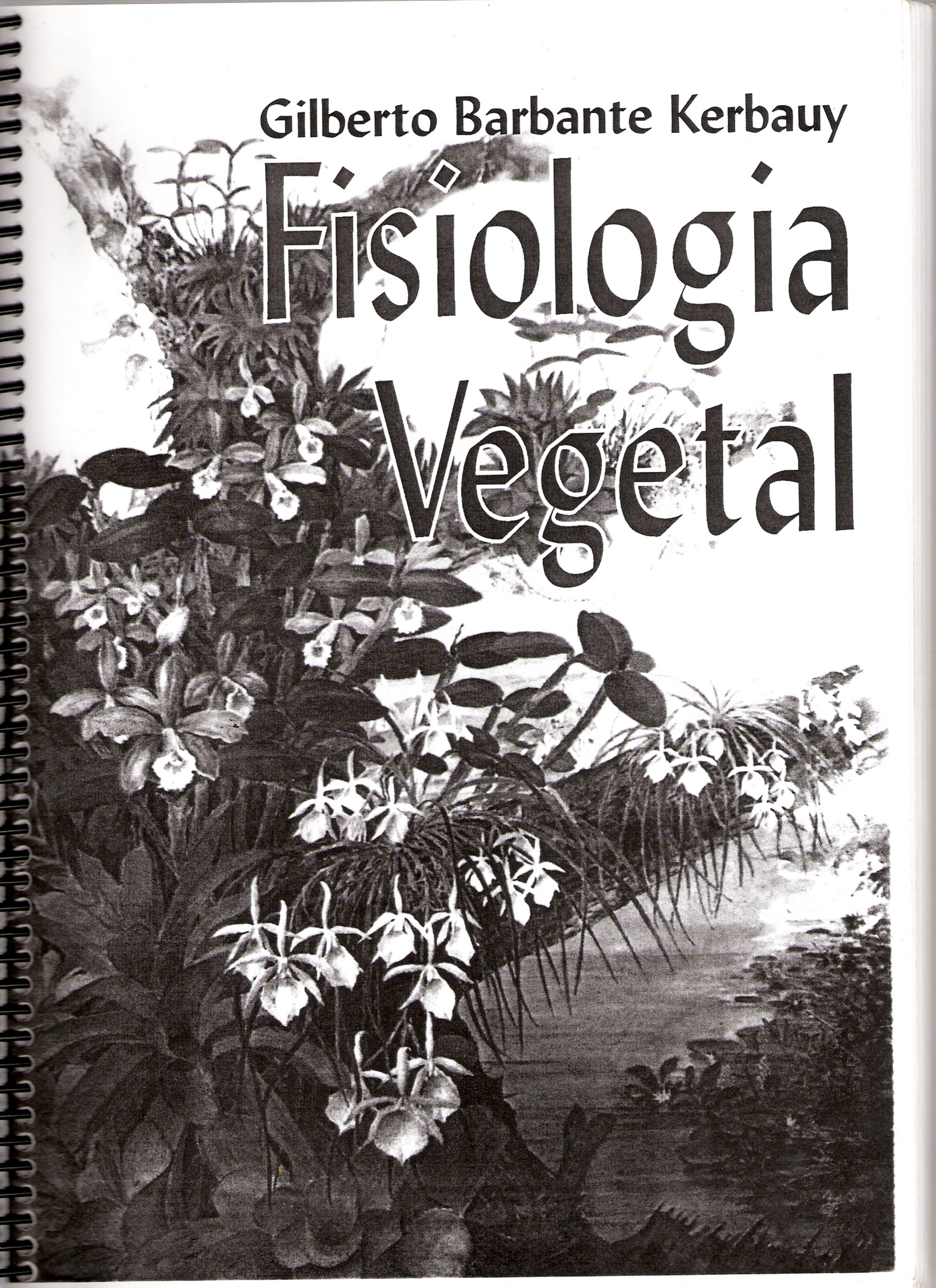


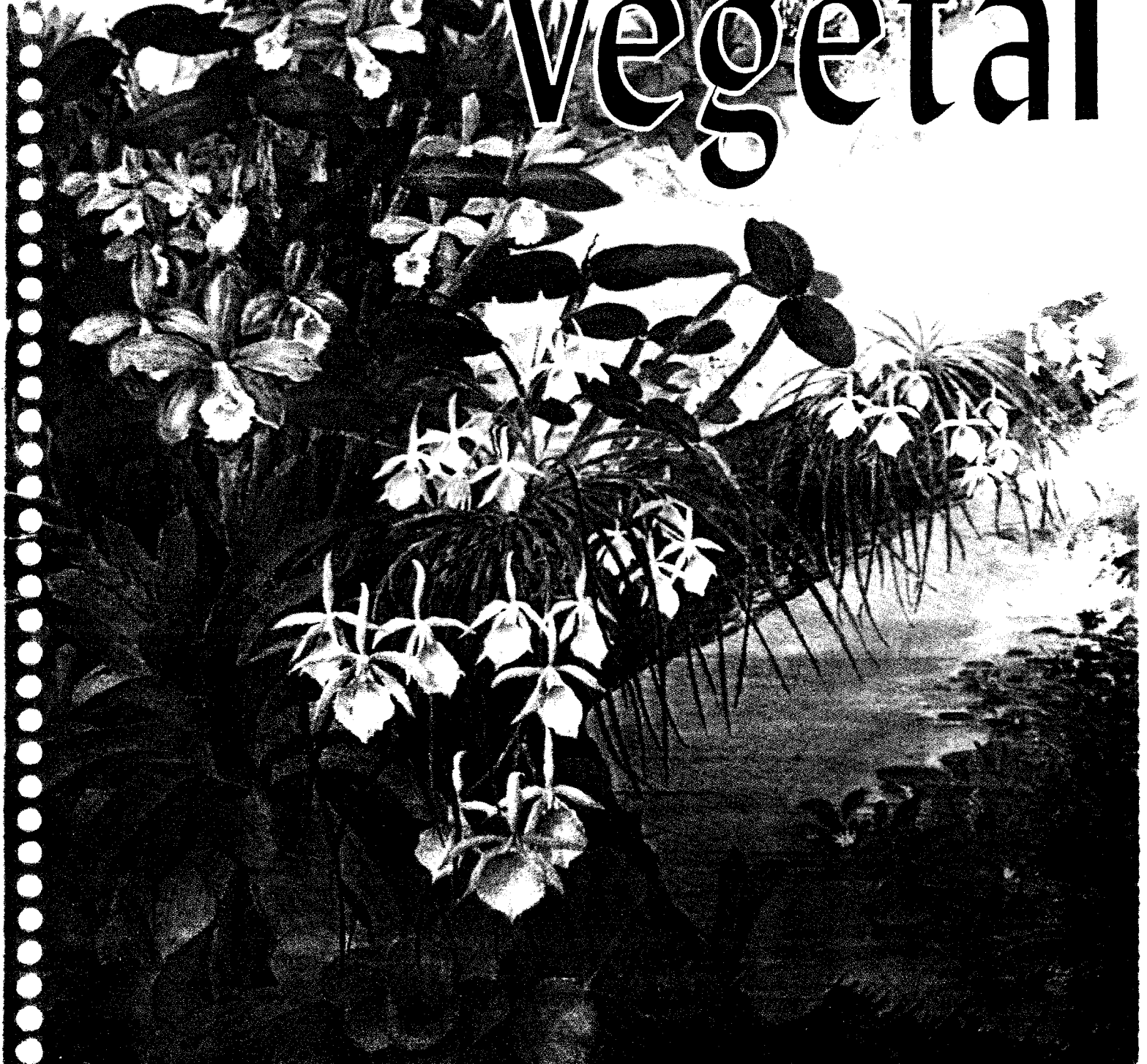
Gilberto Barbante Kerbauy

Fisiologia Vegetal



Gilberto Barbante Kerbauy

Fisiologia Vegetal



Fisiologia Vegetal



No interesse de difusão da cultura e do conhecimento, o autor e os editores envidaram o máximo esforço para localizar os detentores dos direitos autorais de qualquer material utilizado, dispondo-se a possíveis acertos posteriores caso, inadvertidamente, a identificação de algum deles tenha sido omitida.

Capa: Aquarela de Gilberto Muylaert Tinoco inspirada na Mata Atlântica da região do Rio de Janeiro, identificando-se plantas de *Brassavola perrinii* Lindl, *Cattleya harrissoniae* Paxt e *Vriesea* sp. Tinoco, desde muito jovem, ainda morando em Campos (RJ), tem pelas orquídeas uma de suas paixões maiores. Soube como poucos juntá-la a outra paixão, a pintura de aquarelas. Artista virtuoso, ele as tem pintado ao longo de sua vida. Sua coleção ultrapassa de longe uma centena de aquarelas, todas tendo como motivo central as orquídeas brasileiras, até as microorquídeas, estas de beleza quase oculta aos olhos menos treinados. Todavia, inexplicavelmente, Tinoco não disponibilizou até hoje esse seu rico acervo artístico à apreciação pública.

Direitos exclusivos para a língua portuguesa
Copyright © 2004 by
EDITORA GUANABARA KOOGAN S.A.
Travessa do Ouvidor, 11
Rio de Janeiro, RJ — CEP 20040-040
Tel.: 21-2221-9621
Fax: 21-2221-3202
gbk@editoraguanabara.com.br
www.editoraguanabara.com.br

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 Web, ou outros), sem permissão expressa da Editora.

Fisiologia Vegetal

Gilberto Barbante Kerbauy

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

Dedicatória

À Edna,
esposa e companheira de jornadas,
ao Daniel, Larissa, Victor e Karen, dedico.

Colaboradores

Alfredo Gui Ferreira, Ana Paula Artimonte Vaz, Ângela Maria Cangiani Furlani, Arthur Germano Fett-Neto, Denis Ubeda de Lima, Edison Paulo Chu, Eliane Stacciarini-Seraphin, Gilberto B. Kerbauy, Helenice Mercier, Henrique Pessoa dos Santos, José Antonio Pimenta, Ladaslav Sodek, Lázara Cordeiro, Lázaro Eustáquio Pereira Peres, Lilian Beatriz Penteado Zaidan, Manlio Silvestre Fernandes, Marco Aurélio S. Tiné, Marcos Silveira Buckeridge

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

Ana Paula Artimonte Vaz

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

Ângela Maria Cangiani Furlani

Pesquisadora PhD aposentada do Centro de Pesquisa e Departamento de Solos e Recursos Ambientais do Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP

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

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

Helenice Mercier

Professora Doutora 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

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

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

Pesquisador Científico PhD da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica da Se-

cretaria do Meio Ambiente do Estado 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 Se-

cretaria 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 Julio 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

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 existência 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 expan-

são do conhecimento da Fisiologia Vegetal, num processo de interação sinérgica 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 nesse 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, na 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, 5

Propriedades de Coesão e Adesão, 6

Processos do Movimento da Água, 7

Fluxo em Massa, 7

Difusão, 8

Osmose, 9

Potencial Químico, 10

Potencial de Água, 11

Componentes do Potencial de Água, 12

Potencial de Pressão (ψ_p), 12

Potencial Osmótico (ψ_π), 12

Potencial Gravitacional (ψ_g), 13

Potencial Mátrico ou Matricial (ψ_m), 13

Movimento da Água entre Células e Tecidos, 13

Água no Solo, 16

Absorção e Movimento Radial de Água nas Raízes, 18

Movimento Ascendente de Água no Xilema, 21

Pressão Positiva da Raiz, 22

Capilaridade, 23

Teoria da Coesão e Tensão, 24

Transpiração, 27

Força que Dirige a Transpiração, 29

Por que a Transpiração?, 30

Fisiologia dos Estômatos, 31

Caracterização Geral dos Estômatos, 31

Mecanismos que Regulam o Movimento Estomático, 33

Controle do Movimento Estomático, 36

Água e Temperatura, 36

Dióxido de Carbono e Luz, 37

Referências, 38

Bibliografia Recomendada, 39

2 NUTRIÇÃO MINERAL, 40

Ângela Maria Cangiani Furlani

Introdução, 40

Os Elementos Minerais nas Plantas. Definição e Classificação. Critérios de Essencialidade, 41

Mecanismos de Contato Entre as Raízes das Plantas e o Solo, 43

A Absorção Iônica pelas Células das Raízes, 45

Características Gerais da Absorção Iônica pelas Plantas Inferiores e Superiores, 45

O Caminho dos Solutos do Meio Exterior para o *Apoplasto* das Raízes, 45

Via *Simplasto*: Transporte de Solutos Através das Membranas das Células, 48

Estrutura e Composição das Membranas, 48

Mecanismos Passivos e Ativos de Transporte de Solutos na Membrana Plasmática e Tonoplasto, 49

O Gradiente de Potencial Eletroquímico, 50

As Bombas de Prótons, os Carregadores e os Canais de Íons nas Membranas, 51

Absorção de Nutrientes Minerais pelas Folhas, 53

Mobilidade de Íons e Solutos no Xilema e Floema, 54

Mobilidade no Xilema, 54

Mobilidade no Floema, 54

Sobre a Aquisição e as Principais Funções dos Nutrientes, 56

Nitrogênio, 56

Fósforo, 56

Potássio, 57

Cálcio, 58

Magnésio, 59

Enxofre, 60

Boro, 61

Cloro, 62

Cobre, 63

Ferro, 63

Manganês, 64

Molibdênio, 65

Níquel, 66

Zinco, 67

Elementos Benéficos, 68

Sódio, 68

A) Sódio Como Nutriente Mineral, 68

B) Sódio Como Substituto do Potássio e Estimulante do Crescimento, 69

Silício, 69

Cobalto, 70

Selênio, 70

Alumínio, 70

Micorrizas Arbusculares e a Absorção de Nutrientes pelas Plantas, 71

Referências, 73

Bibliografia Recomendada, 75

3 **FIXAÇÃO DO NITROGÊNIO, 76**

Lázara Cordeiro

Ciclo do Nitrogênio, 76

Fixação Biológica do Nitrogênio, 78

Formação do Nódulo, 81

Multiplicação do Rizóbio na Rizosfera e sua Adesão às Raízes, 82

Penetração do Rizóbio na Raiz e

Formação da Corrente de

Infecção, 82

Libertação do Rizóbio e

Desenvolvimento dos Nódulos, 84

Bioquímica e Fisiologia da Fixação do Nitrogênio, 89

Referências, 92

Bibliografia Recomendada, 93

4 **METABOLISMO DO NITROGÊNIO, 94**

Ladaslav Sodek

Introdução, 94

Absorção do N Inorgânico do Solo, 95

Redução do NO_3^- , 96

Regulação da Enzima, 97

Fotossíntese e a Assimilação de NO_3^- , 99

Assimilação de NH_4^+ e o Ciclo da Sintase do Glutamato, 100

Transporte do N, 102

Utilização do N Transportado nos Sítios de Consumo, 104

Aminotransferases, 105

Biossíntese de Aminoácidos, 106

Família do Aspartato: Treonina, Lisina, Metionina, Isoleucina e Asparagina, 106

Família dos Aminoácidos Aromáticos:

Fenilalanina, Tirosina e Triptofano, 108

Família do Glutamato: Prolina, Arginina e Glutamina, 109

Família do Piruvato: Leucina, Valina e Alanina, 111

Família do 3-fosfoglicerato: Serina, Glicina e Cisteína, 111

Família da Ribose-5-fosfato: Histidina, 112

Assimilação do Enxofre, 113

Bibliografia Recomendada, 113

5 **FOTOSSÍNTESE, 114**

Nidia Majerowicz

O que Move a Vida?, 114

Fotossíntese: Um Processo de Oxidação-Redução, 115

Fotossíntese: Um Processo em Duas Etapas, 116

Estrutura da Máquina Fotossintética, 119

As Folhas, 119

Os Cloroplastos, 121

A Conversão da Luz em Energia Química, 123

Luz: A Energia que Impulsiona a

Fotossíntese, 123

A Natureza Física da Luz, 123

Luz e Pigmentos: Absorção e Destino da

Energia de Excitação Eletrônica, 125

O que Acontece Quando os Pigmentos

Absorvem Luz?, 126

Os Pigmentos Fotossintéticos, 128

O Fluxo Fotossintético de Elétrons e a

Fotoxidação da Água, 128

O Fotossistema II, 132

A Fotoxidação da Água, 133

O Fotossistema I, 133

A Fotofosforilação, 134

Fotofosforilação Não-cíclica, Cíclica e

Pseudocíclica, 135

Transporte de Elétrons e Herbicidas, 137

Os Complexos Supramoleculares nas

Membranas dos Tilacóides: Estrutura e

Regulação, 137

Metabolismo do Carbono na Fotossíntese, 140

A Rubisco, 143

O Ciclo C_3 (Ciclo de Calvin-Benson), 143

Etapas do Ciclo C_3 , 144

Ciclo Autocatalítico, 145

Balanco Energético do Ciclo C_3 , 147

Regulação do Ciclo C_3 , 147

A Fotorrespiração e o Ciclo C_2 , 149

O Ciclo C_2 , 150

Fatores que Afetam as Taxas de

Fotorrespiração, 152

O Papel da Fotorrespiração, 153

Mecanismos Fotossintéticos de Concentração de CO_2 , 154

Mecanismo C_4 , 154

Mecanismo MAC (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), 158

A PEP Carboxilase, 160

O Destino dos Produtos da

Fotossíntese, 161

Aspectos Ecofisiológicos Associados à

Fotossíntese, 166

- Fotossíntese Líquida (F_L), 167
 Fotossíntese Líquida e Disponibilidade de CO_2 , 167
 Fotossíntese e Eficiência no Uso da Água, 169
 Respostas Fotossintéticas à Luz, 170
 Plantas de Sol e de Sombra, 171
 Resposta Fotossintética à Temperatura Foliar, 172
 Eficiência de Uso do Nitrogênio, 173
 Fotossíntese e Produtividade em Comunidades Vegetais, 173
 Fotossíntese por Unidade de Área Foliar (F_L) e Produtividade, 174
 Taxas de Respiração Celular e Produtividade, 174
 Produtividade e Arquitetura do Dossel, 175
 Fotossíntese e Produtividade Econômica das Culturas, 176
 Agradecimentos, 176
 Referências, 177
 Bibliografia Recomendada, 178
- 6 TRANSPORTE NO FLOEMA, 179**
Manlio Silvestre Fernandes e Sonia Regina de Souza
- Visão Geral do Sistema de Transporte no Floema, 179
 Constituição dos Elementos Crivados e Células Companheiras, 181
 Os Elementos Crivados (EC), 181
 As Células Companheiras (CC), 182
 Vias Apoplástica e Simplástica, 183
 Apoplasto, 183
 Simplast e Plasmodesmo, 184
 Transporte Intermediário, 185
 Carregamento e Descarregamento do Floema, 185
 Transporte de Sacarose, 188
 Bombas de Prótons, 189
 Visão Geral do Carregamento e Descarregamento do Floema, 190
 O que é Transportado, 192
 Açúcares, 192
 Outros Elementos Transportados, 192
 Saída de Sacarose, 193
 Transporte Fonte–Dreno, 193
 Referências, 196
 Bibliografia Recomendada, 196
- 7 RESPIRAÇÃO, 198**
Marco Aurélio S. Tiné, Marcos S. Buckeridge, Miguel José Minhoto e Denis Ubeda de Lima
- Introdução, 198
 O Fluxo de Carbono na Célula, 199
 Glicólise, 199
 Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos (CAT) ou Ciclo de Krebs, 202
 Cadeia de Transporte de Elétrons, 203
 Via da Ubiquinona ou Via Alternativa de Transporte de Elétrons, 204
 Fermentação, 205
 O Fluxo Respiratório Varia com o Estado Fisiológico da Célula, 206
 Respiração nos Tecidos e Órgãos, 208
 Raízes, 208
 Caule, 209
 Folhas, 209
 Flores e Frutos, 210
 Sementes, 211
 Controle da Respiração nas Plantas por Fatores Internos, 212
 Disponibilidade de Substrato, 212
 Quantidade de Oxigênio, 213
 Temperatura, 213
 Ferimentos e Lesões, 214
 Respiração na Planta Inteira, 214
 A Ecofisiologia e a Respiração, 215
 Referências, 216
- 8 AUXINAS, 217**
Helenice Mercier
- Introdução, 217
 Histórico da Descoberta, 217
 Auxinas Naturais e Sintéticas, 219
 Metabolismo do AIA, 220
 Biossíntese do AIA, 220
 Conjugação do AIA, 222
 Degradação do AIA, 223
 Transporte Polar das Auxinas, 224
 Teoria Quimiosmótica, 226
 Efeitos Fisiológicos das Auxinas, 229
 Divisão, Crescimento e Diferenciação Celular, 229
 Divisão Celular, 229
 Expansão/Alongamento Celular, 229
 Hipótese do Crescimento Ácido, 231
 Continuidade do Crescimento, 232
 Diferenciação Celular, 234
 Desenvolvimento do Eixo Caulinar, 236
 Quebra da Dominância Apical e Crescimento da Gema Axilar, 236
 Formação do Gancho Apical, 237
 Desenvolvimento Radicular, 238
 Desenvolvimento de Flores e Frutos, 240
 Abscisão Foliar, 243
 Ação Herbicida de Auxinas Sintéticas, 244
 Mecanismo de Ação, 245
 Percepção, 245

Transdução, 246
Expressão Gênica, 247
Agradecimentos, 249
Referências, 249

9 CITOCININAS, 250

Lázaro Eustáquio Pereira Peres e Gilberto B. Kerbauy

Introdução, 250
Dinâmica das Citocininas na Célula e no Vegetal
Como um Todo, 252
Biossíntese, 252
Conjugação e Hidrólise, 255
Oxidação, 257
Transporte, 260
Modo de Ação das Citocininas, 260
Percepção e Transdução de Sinal, 261
Alvos Primários das Citocininas, 263
Divisão Celular, 263
Diferenciação Celular, 263
Estabelecimento de Drenos, 264
Retardamento da Senescência
Foliar, 264
Fotomorfogênese, 266
Efeitos das Citocininas, 266
Interação com Outras Classes
Hormonais, 267
Balanço Auxina/Citocinina e o
Desenvolvimento Vegetal, 268
Citocininas na Interação Entre os Vegetais e
o Ambiente, 272
Luz, 272
Nutrientes Minerais, 272
Temperatura, 273
Interação com Microorganismos, 274
Citocininas e Biotecnologia, 275
Conclusões e Perspectivas, 276
Referências, 277
Bibliografia Recomendada, 278

10 GIBERELINAS, 279

Miguel Pedro Guerra

Histórico e Ocorrência, 279
Biossíntese, 279
Estágio 1: Geranylgeranyl difosfato a
Ent-Kaureno, 281
Estágio 2: *Ent*-Kaureno a
AG₁₂-Aldeído, 281
Estágio 3: AG₁₂-Aldeído a
Giberelinas, 281
Conjugação e Inativação, 282
Transporte, 282
Mecanismos e Modo de Ação, 283
Alongamento e Divisão Celular, 283

Regulação do Crescimento, Floração e Ciclo
Celular, 284
Mobilização de Reservas de Endosperma, 286
Efeitos Fisiológicos e Aplicações, 288
Mudança de Fase, Indução Floral e
Determinação do Sexo, 288
Efeitos em Frutos, 290
Superação da Dormência em Sementes,
Embriões Somáticos e Gemas, 290
Outras Aplicações, 291
Referências, 292

11 ÁCIDO ABSCÍSICO, 293

Eliane Stacciarini-Seraphim

Introdução, 293
Histórico e Descoberta do ABA, 293
Ocorrência do ABA nas Plantas, 294
Mutantes Deficientes e Insensíveis ao
ABA, 295
Estrutura, Principais Formas e Atividade do
ABA, 295
Biossíntese e Inativação do ABA, 297
Síntese dos Carotenóides
Não-oxigenados, 297
Síntese e Clivagem dos Carotenóides
Oxigenados nos Plastídeos, 298
Síntese do ABA no Citossol, 298
Inativação, 300
Transporte do ABA, 301
Mecanismo de Ação do ABA, 301
Transdução de Sinais, 301
Expressão Gênica, 303
Principais Funções do ABA, 303
Proteção ao Estresse Hídrico, 303
Desenvolvimento da Semente, 304
Dormência de Gemas, 305
Senescência, 305
Proteção Contra Injúrias, 306
Aplicações Práticas do ABA, 306
Referências, 307
Bibliografia Recomendada, 307

12 ETILENO, 308

Sandra Colli

Histórico da Descoberta do Etileno, 308
Ocorrência do Etileno, 309
Biossíntese e Inativação, 310
Aplicação de Fitorreguladores, 313
Auxina, 313
Citocinina, 313
Giberelina, 313
Ácido Abscísico, 313
Etileno, 313
Fatores Bióticos e Abióticos, 314

- Temperatura, 314
- Luz, 314
- Oxigênio, 314
- CO₂, 314
- Alagamento, 314
- Seca, 315
- Substâncias Químicas, 315
- Ferimentos Mecânicos, 315
- Infecção por Patógenos, 316
- Transporte do Etileno, 316
- Mecanismo de Ação do Etileno, 316
- Principais Funções nos Vegetais, 318
- Divisão e Expansão Celular, 318
- Dormência, 318
- Crescimento e Diferenciação da Parte Aérea, 319
 - Crescimento, 319
 - Abertura do Gancho Subapical, 319
 - Expansão e Epinastia de Folhas, 320
 - Lenticelas Hipertrofiadas, 320
 - Indução Floral e Expressão Sexual, 320
 - Tecidos Secretores, 321
 - Senescência, 321
 - Amadurecimento de Frutos, 323
 - Abscisão, 327
- Crescimento e Diferenciação de Raízes, 328
 - Crescimento, 328
 - Formação de Pêlos Absorventes, 328
 - Raízes Adventícias, 328
 - Aerênquima, 329
- Referências, 331
- Bibliografia Recomendada, 331

13 OUTROS REGULADORES: BRASSINOSTERÓIDES, POLIAMINAS, ÁCIDOS JASMÔNICO E SALICÍLICO, 333

Sandra Colli

- Introdução, 333
- Brassinosteróides, 333
 - Biossíntese dos Brassinosteróides, 333
 - Funções dos Brassinosteróides, 333
- Poliaminas, 334
 - Biossíntese das Poliaminas em Plantas, 335
 - Funções Celulares das Poliaminas, 336
 - Funções das Poliaminas no Desenvolvimento Vegetal, 336
- Ácido Jasmônico, 337
 - Biossíntese do Ácido Jasmônico, 337
 - Funções do Ácido Jasmônico, 337
- Ácido Salicílico, 338
 - Biossíntese do Ácido Salicílico, 338
 - Funções do Ácido Salicílico, 339
- Bibliografia Recomendada, 340

14 MOVIMENTOS EM PLANTAS, 341

Alfredo Gui Ferreira e Arthur Germano Fett-Neto

- Introdução, 341
- Tropismos, 341
 - Fototropismo, 341
 - Gravitropismo, 345
 - Raízes, 345
 - Percepção, 345
 - Transdução e Resposta, 346
 - Caulis e Coleóptiles, 347
 - Percepção, 347
 - Transdução e Resposta, 348
- Outros Tropismos, 348
 - Tigmotropismo, 348
 - Hidrotropismo, 348
 - Quimiotropismo, 348
- Nastismos, 349
 - Epinastismo e Hiponastismo, 349
 - Termonastismo, 350
 - Hidronastismo, 350
 - Nictinastismo, 350
 - Tigmonastismo, 353
- Referências, 355
- Bibliografia Recomendada, 355

15 RITMOS CIRCADIANOS NAS PLANTAS, 356

Arthur Germano Fett-Neto

- Terminologia e Características de Ritmos Circadianos, 357
- Componentes e Base Molecular do Relógio Circadiano, 357
- Interação entre Relógio Circadiano e Fotoperiodismo, 364
- Referências, 365
- Bibliografia Recomendada, 365

16 FLORAÇÃO, 366

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

- Introdução, 366
- Fases de Desenvolvimento, 366
- Indução da Floração, 367
 - Fatores Ambientais, 367
 - Luz, 368
 - Temperatura, 373
 - Umidade, 374
 - Fatores Endógenos, 374
 - Nutrição, 374
 - Açúcares, 375
 - Hormônios Vegetais, 376
 - Citocininas, 376
 - Auxinas, 377

Giberelinas, 377
Ácido Abscísico, 377
Etileno, 377

Hipóteses Sobre a Natureza do Sinal Floral, 377
Evocação Floral, 378
Desenvolvimento Floral, 379
Aspectos Moleculares, 381
Floração *In Vitro*, 383
Perspectivas no Estudo da Floração, 385
Bibliografia Recomendada, 385

17 GERMINAÇÃO, 386

Victor José Mendes Cardoso

Introdução, 386
A Semente, 386
Desenvolvimento da Semente, 386
Etapas do Desenvolvimento, 386
Desidratação e Tolerância à Dessecação, 388
Controle do Desenvolvimento, 389
O Processo de Germinação, 390
Terminologia e Critérios, 390
Embebição, 391
Metabolismo, 392
Extensão Radicular, 394
Controle Hormonal, 394
Fatores que Influenciam a Germinação, 395
Fatores Ambientais, 395
Efeitos na Fase de Maturação, 396
Efeitos na Fase de Pós-dispersão, 397
Luz, 397
Temperatura, 398
Potencial da Água, 400
Fatores Químicos, 401
Fatores Bióticos, 401
Fatores Intrínsecos, 402
Morfologia, 402
Viabilidade, 402
Dormência, 404
Referências, 407
Bibliografia Recomendada, 407

18 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 de Reserva, 413
Importância Econômica dos Órgãos Tuberosos, 416
Conclusões e Perspectivas, 419
Referências, 420
Bibliografia Recomendada, 420

19 FOTOMORFOGÊNESE EM PLANTAS, 421

Nidia Majerowicz e Lázaro Eustáquio Pereira Peres

Introdução, 421
Fitocromo e Controle do Desenvolvimento, 422
Descoberta do Fitocromo, 422
Fitocromo: Uma Família Gênica, 425
Propriedades Físico-Químicas dos Fitocromos, 426
A Molécula dos Fitocromos, 426
Propriedades Espectrofotométricas, 427
Localização e Expressão dos Fitocromos na Planta, 428
Respostas ao Fitocromo Também Dependem da Quantidade de Luz, 428
Mutações Fotomorfogênicas, 430
Mecanismos de Ação dos Fitocromos, 431
Modificação da Permeabilidade das Membranas, 432
Regulação da Expressão Gênica, 432
A Luz nos Ambientes Naturais, 433
Importância Ecofisiológica dos Fitocromos, 433
Controle da Germinação de Sementes Fotoblásticas, 434
Desestiolamento de Plântulas Recém-germinadas, 435
Modulação do Crescimento e Forma de Plantas Iluminadas, 435
Detecção da Aurora e do Crepúsculo e Sincronização do Relógio Biológico, 436
Percepção Fotoperiódica, 436
Fotomodulação do Desenvolvimento pela Luz Azul, 437
Referências, 437
Bibliografia Recomendada, 438

ÍNDICE ALFABÉTICO, 439

Relações Hídricas

José Antonio Pimenta

INTRODUÇÃO

A água é uma das mais importantes substâncias do nosso planeta. A vida evoluiu na água, que é o solvente ideal para a ocorrência dos processos bioquímicos. Sem água, a vida como nós conhecemos não existiria. As plantas vasculares estão entre os primeiros organismos de que se tem registro fóssil, aproximadamente 450 milhões de anos atrás; no entanto, isso corresponde apenas a 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 a 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 somente após a absorção de uma considerável quantidade de água.

A água é absorvida do solo, movimentada 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 apenas em 1 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 estudar 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 essencial como reagente ou substrato de importantes processos como a fotossíntese (ver Cap. 5, Fotossíntese) e hidrólise do amido (ver Cap. 7, Respiração) a açúcar em sementes germinando. 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 que estão intimamente relacionados com as leis da termodinâmica, sendo necessários 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 alta força intermolecular da água. Em outras palavras, o aumento da

TABELA 1.1

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

Substância	Fórmula Química	Quantidade de H	Ponto de Fusão (C)	Calor de Fusão ($j g^{-1}$)	Ponto de Ebulição (°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 ₂ O	2	0	335	100	2.452
Fluoreto de H	HF	1	-92	-	19	-
Neônio	Ne	0	-249	-	-246	-

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 eletronegativo que o hidrogênio tendendo 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 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 dife-

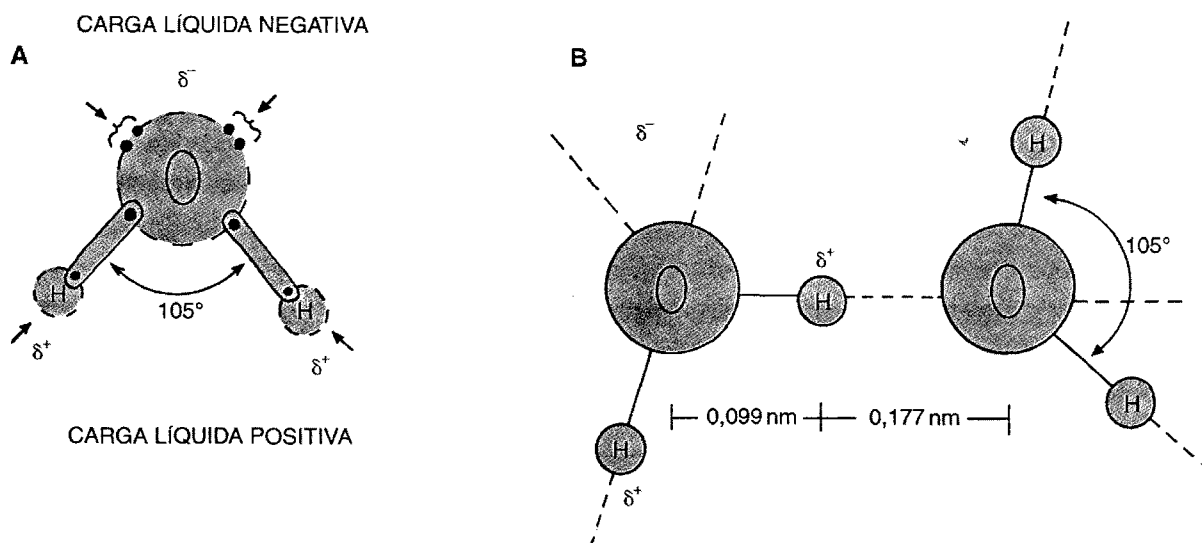


Fig. 1.1 A. Representação esquemática da molécula de água. As duas ligações intramoleculares dos hidrogênios com o oxigênio formam um ângulo de 105° . As cargas parciais opostas (δ^- e δ^+) na molécula de água resultam na formação de pontes de hidrogênio intermoleculares com outras moléculas de água; as setas indicam a posição das pontes de hidrogênio. B. Esquema mostrando as distâncias das ligações de átomos de hidrogênio e oxigênio intra e intermoleculares. As ligações covalentes (intramoleculares) são representadas por linhas contínuas e as pontes de hidrogênio (intermoleculares) por linhas pontilhadas.

rença 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 de 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 (H₂O)_n, onde n diminui com o aumento da temperatura.

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 nucléicos 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 -NH₂, 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

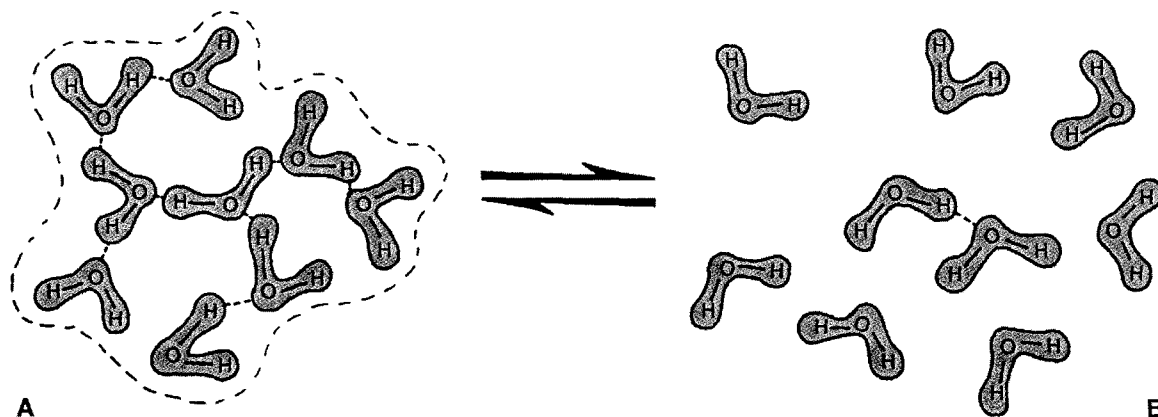


Fig. 1.2 A. Diagrama esquemático apresentando a agregação das moléculas numa forma semicristalina. B. Desagregação das moléculas de água devido à contínua agitação térmica, mostrando uma configuração ao acaso (fase gasosa).

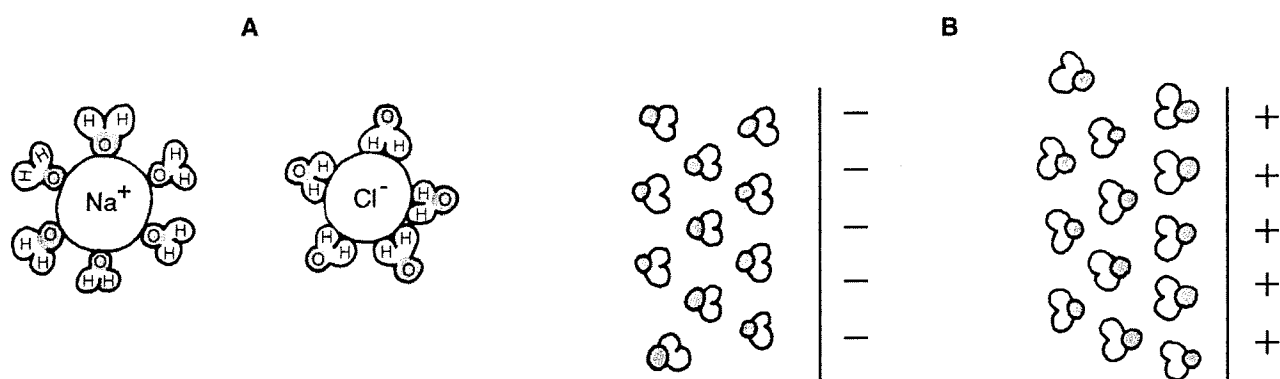


Fig. 1.3 A. Orientação das moléculas de água na superfície de um íon. B. Orientação das moléculas de água em superfícies de macromoléculas carregadas. Os círculos verdes indicam a posição dos átomos de oxigênio.

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 de 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.

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

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 se mantenha 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 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 hi-

drogênio 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 j g⁻¹ °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 a 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 à 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 pela formação de gotículas nas folhas e pelo 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 se concentrar

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 frequentemente adicionadas aos fungicidas e herbicidas nas pulverizações, visando, com a quebra da tensão superficial, 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, da ordem de 30 megapascal (MPa) (1 MPa = 10 bares = 9,87 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, destas 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; outro tipo de gradiente, o de potencial químico, está geralmente relacionado ao movimento por difusão. Sendo assim, e ao contrário do fluxo em massa, a força que dirige a difusão da água é dependente do gradiente de concentração do soluto.

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 já foi mencionado, 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 o 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 (soluto) 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 misturada, sem necessidade de outras forças agindo sobre as moléculas. Quando a distribuição uniforme das mo-

léculas 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 à 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}

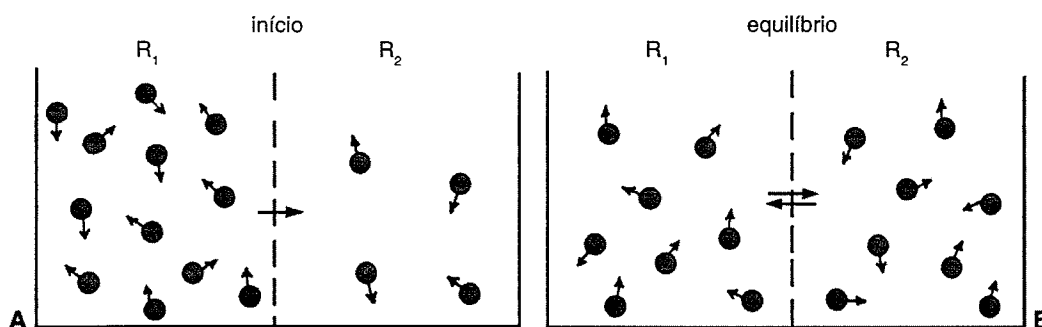


Fig. 1.4 Movimento termocástico de partículas levando à difusão, que pode ocorrer tanto com líquidos, sólidos ou gases. A. Compartimentos com diferentes concentrações. B. Compartimentos após o equilíbrio dinâmico. Entropia de R2 > R1 no início, tendência de R2 se desorganizar até $R1 = R2$.

$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ difundir 1 m na água, mas somente 0,6 segundo para difundir $5 \mu\text{m}$, 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 substâncias sem carga atravessem mais prontamente do que solutos de partículas grandes e substâncias carregadas.

Durante muito tempo, pensou-se que a osmose, que é a forma de movimento da água para dentro e para fora das células, fosse 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 com deutério e trítio.

Somente nos anos 90 é que a questão dos canais de água nas membranas foi mais bem compreendida, ao serem identificados esses canais, denominados aquaporinas, formados por proteínas com massa molecular de 26 a 29 KD 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 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 velocidade de difusão individual de moléculas de água através da membrana. A capacidade de transportar água pode ser regulada pelo estado de fosfori-

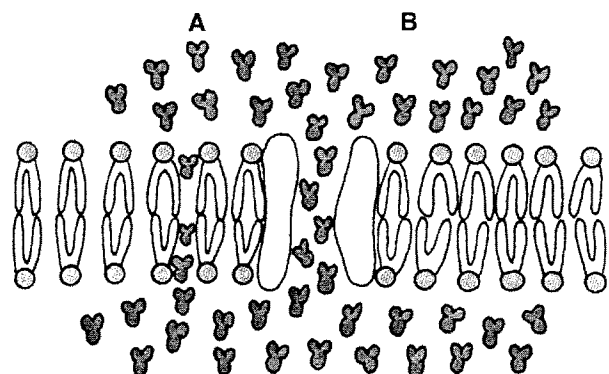


Fig. 1.5 Água atravessando a membrana celular de plantas. **A.** Por difusão individualmente atravessando a bicamada lipídica. **B.** Por fluxo em massa, através de canais de dimensões moleculares formados por proteínas integrais da membrana, tais como aquaporinas.

lação 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 um potencial osmótico ($\Psi\pi$), que é uma de suas propriedades, cujo valor é o mesmo da pressão osmótica, mas com sinal negativo, pois apresentam forças iguais mas opostas. Ainda neste capítulo, será abordado mais detalhadamente o potencial osmótico.

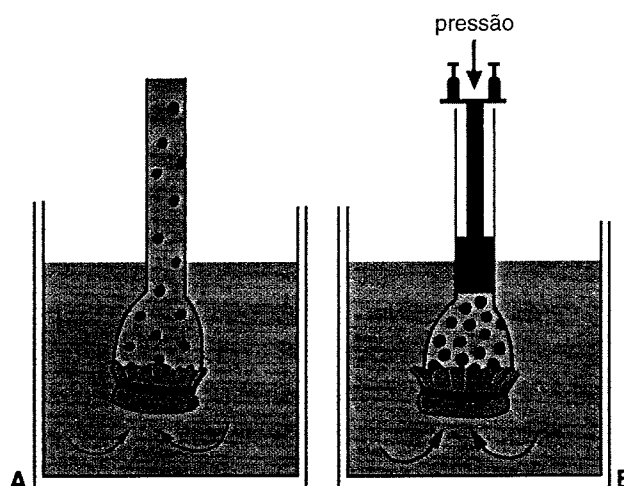


Fig. 1.6 Osmômetro, dispositivo para demonstrar a osmose. Difusão de água através da membrana semipermeável em resposta ao gradiente de potencial químico da água. **A.** Início da osmose. **B.** Pressão aplicada acelerando o equilíbrio dinâmico (movimento pela membrana em ambas as direções se igualam).

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 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 planta, como gradiente de potencial de água.

POTENCIAL QUÍMICO

O potencial químico (μ) é uma maneira termodinâmica de descrever quantitativamente a energia li-

vre associada com a capacidade de uma substância realizar trabalho. Como qualquer outra substância, a água move-se de uma região de maior para outra 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):

$$\mu = \mu^* + RT \ln a + zFE + VP + mgh \quad (1.2)$$

Potencial químico é uma quantidade relativa, desse modo, um nível de referência, μ^* , é incluído na equação 1.2. Existindo uma constante desconhecida, o valor real do potencial químico não é determinável. 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.

O termo $RT \ln a$ (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 terceiro termo 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 termo 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 cm³ 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 pelo termo 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:

$$RT \ln a_w = -V_w \pi \quad (1.3)$$

onde o w subscrito refere-se à água. Substituindo a equação 1.3 na equação 1.2, desprezando o componente elétrico, já que se trata de água, tem-se:

$$\mu_w - \mu_w^* = -V_w \pi + V_w P + m_w g h \quad (1.4)$$

De acordo com a equação 1.4, 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 anulavam de forma que a solução entrava em equilíbrio com a água pura, ou seja, $\mu_w - \mu_w^* = 0$.

POTENCIAL DE ÁGUA

Nota-se, na equação 1.4, 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 1.4:

$$\Psi_w = \frac{(\mu_w - \mu_w^*)}{V_w} = P - \pi + \rho_w g h \quad (1.5)$$

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. Desse modo, o Ψ_w é definido como a diferença do potencial químico da água numa condição qualquer daquele da água líquida pura em estado padrão 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.

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 ($\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$). 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 o 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 1.5 $\mu_w - \mu_w^*$ 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 termo 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:

$$\Psi_w = \Psi\pi + \Psi p + \Psi g \quad (1.6)$$

conseqüentemente, a água caminha no sistema solo-planta-atmosfera a favor de um gradiente de potencial de água.

Componentes do potencial de água

No item anterior, foi definido o potencial de água e considerados três dos seus componentes: o potencial de pressão (Ψp), o potencial osmótico ($\Psi\pi$) e o potencial gravitacional (Ψg). Esses componentes indicam os efeitos da pressão, solutos e gravidade, respectivamente, sobre a energia livre da água.

POTENCIAL DE PRESSÃO (Ψp)

O Ψp é idêntico ao P da equação 1.5, 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 Ψp 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 Ψp é *usualmente chamado de pressão de turgor e tem um 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 Ψp 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 ($\Psi\pi$)

Como já foi mencionado, o potencial osmótico é uma propriedade das soluções; portanto, seu uso é preferível se comparado ao termo pressão osmótica. O $\Psi\pi$ 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 condi-

ção que não haja soluto, como água pura, o $\Psi\pi$ é zero; isso significa que a presença de solutos reduzirá o $\Psi\pi$, que assumirá valores *negativos*.

Sendo o componente produzido pelas substâncias dissolvidas nas células, o $\Psi\pi$ 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 $-0,3$ MPa. Para soluções “ideais” ou diluídas de substâncias não-dissociáveis, o $\Psi\pi$ pode ser estimado pela equação de van't Hoff:

$$\Psi\pi = -Rtc_s \quad (1.7)$$

onde R é a constante dos gases ($8,314 \text{ j mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), 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 $0,1 \text{ M}$ a 20°C , o $\Psi\pi = -0,244 \text{ MPa}$. 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 realidade, o termo $\rho_w gh$ da equação 1.5, que é igual ao Ψ_g , quase sempre tem sido 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 $0,01 \text{ MPa m}^{-1}$.

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 encontra referência 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 $\Psi\pi$.

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:

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

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 $\Psi\pi$, com o Ψ_p tendo quase sempre valor positivo. No apoplasto que inclui a água nas paredes e no lúmen das células mortas, tais como elementos de vaso, traqueídeos e fibras, o componente dominante é o Ψ_p , com $\Psi\pi$ 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 1.8 é usualmente simplificada para:

$$\Psi_w = \Psi\pi + \Psi_p \quad (1.9)$$

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

Semelhante ao que foi demonstrado com o osmômetro, os movimentos de entrada e saída de água das células ocorrem 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 ($\Psi_\pi = 0$ MPa), logo o $\Psi_w = 0$ MPa ($\Psi_w = \Psi_\pi + \Psi_p$). Quando uma célula vegetal é colocada em água pura, a água mover-se-á para dentro da célula até o Ψ_w da célula se igualar a zero (Fig. 1.7A e B). Nessa condição de equilíbrio, a célula atinge o turgor total. Se a célula for imersa em uma solução de sacarose a 0,1 M com Ψ_w maior que o dela, ocorrerá também absorção de água pela célula até os Ψ_w se igualarem; no entanto, nesse ponto a célula não vai atingir o turgor total (Fig. 1.7C). Nessas condições, então o Ψ_p da célula em equilíbrio vai ser menor “em módulo” que o Ψ_π ; logo, o Ψ_w da célula, assim como o da solução, será negativo, diferente da célula em equilíbrio com a água pura, onde o Ψ_π se iguala ao Ψ_p “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 da célula em equilíbrio com o meio é sempre maior que aquele da célula antes da imersão. 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.

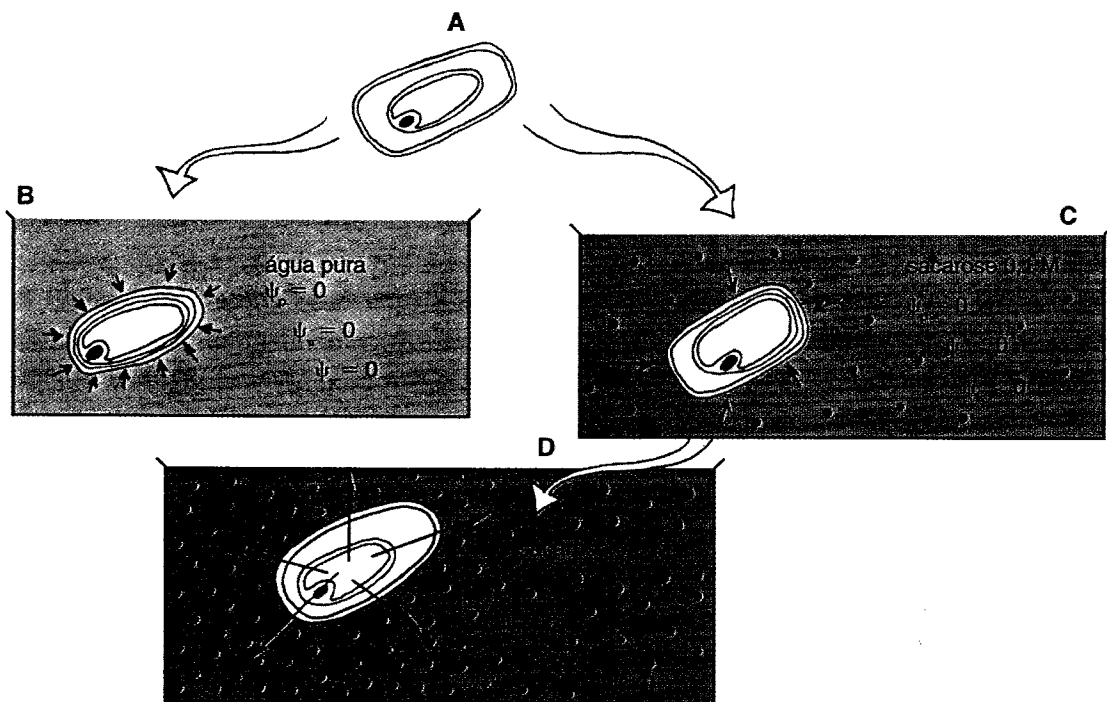


Fig. 1.7 Movimentos de água de célula imersa em diferentes meios para ilustrar os conceitos de potencial de água e seus componentes. A. Célula vegetal antes da imersão com $\Psi_p = 0$; $\Psi_\pi < 0$; $\Psi_w < 0$. B. Célula com $\Psi_p > 0$; $\Psi_\pi < 0$; $\Psi_w = 0$ ($\Psi_\pi = \Psi_p$ em módulo) em equilíbrio com água pura (turgor total). C. Célula com $\Psi_p > 0$; $\Psi_\pi < 0$; $\Psi_w < 0$ ($\Psi_\pi > \Psi_p$ em módulo) em equilíbrio com solução de sacarose 0,1 M (sem atingir turgor total, Ψ_p de c < Ψ_p de b). D. Célula com $\Psi_p = 0$; $\Psi_\pi < 0$; $\Psi_w < 0$, em equilíbrio com solução de sacarose 0,3 M (célula flácida).

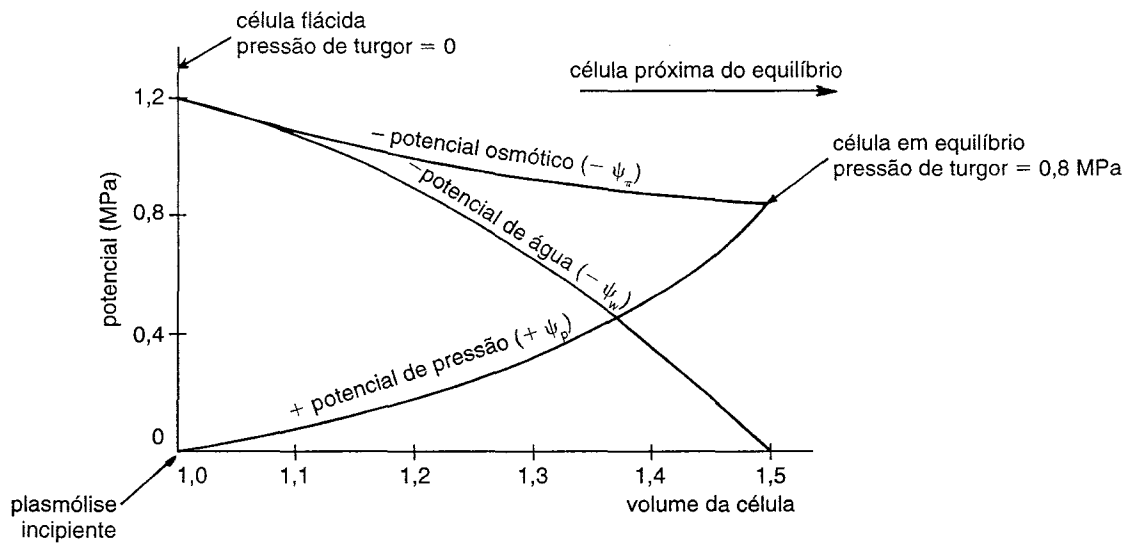


Fig. 1.8 Mudança no potencial de água em uma célula flácida até o equilíbrio, após ser colocada em água pura. Note que, para o potencial osmótico e o de água, os valores são negativos, enquanto, para o potencial de pressão, são positivos. (Diagrama de Höfler modificado.)

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:

$$\epsilon = \frac{\Delta\Psi_p}{\Delta v/v} \quad (1.10)$$

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 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 plasmodesmos. Conseqüentemente, dentro de um grupo estruturalmente homogêneo de células, tal como o parênquima, células individuais podem ter diferentes valores de Ψ_π , 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 do $\Delta\Psi_w$ entre a célula e o ambiente que a envolve, da permeabilidade 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:

$$J_v = L_p (\Delta\Psi_w) \quad (1.11)$$

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 $\text{m} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$). 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 $\text{m} \text{s}^{-1}$). Quando o movimento de água for de célula para célula através dos plasmodesmos, 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 estratos numa formação vegetal, quanto para as mesmas espécies em diferentes estações (Fig. 1.9). Uma deficiência de água no solo e, em consequência, na planta inibe o crescimento por afetar processos da fotossíntese, abertura estomática, sín-

tese 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 a 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 . É importante para o entendimento de todo esse movimento da água uma abordagem sucinta a respeito da natureza dos solos, 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.

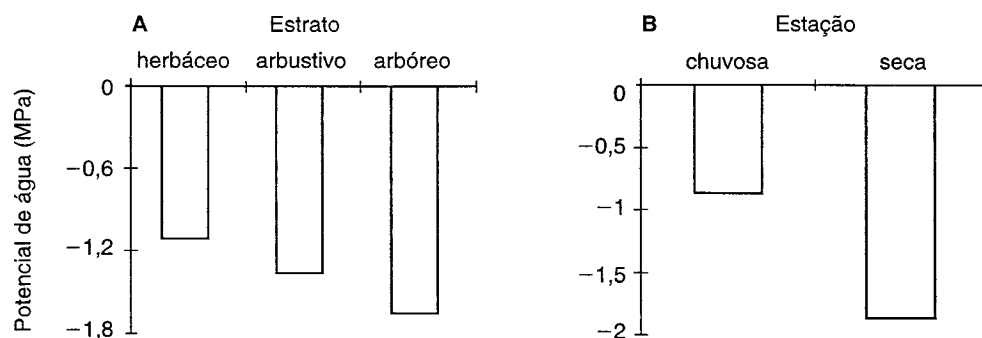


Fig. 1.9 Potencial de água de nove espécies pertencentes a um cerradão do município de São Carlos – Brasil. **A.** Valores médios obtidos para espécies pertencentes a diferentes estratos. **B.** Valores médios obtidos para as nove espécies na estação seca e na chuvosa. (Modificado de Perez & Moraes, 1991.)

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 retêm 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 termo 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, tendendo a minimizar as interfaces ar-água. A água adsorvida pelo solo na CC ou abaixo desse ponto é encontrada em canais capilares e em espaços intersticiais entre partículas de solo em contato. 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:

$$\Psi_p = \frac{-2T}{r} \quad (1.12)$$

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. 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 $\Psi\pi$ 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 uniformemente 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 adquire 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:

$$\text{absorção} = \frac{(\Psi_p + \Psi\pi)_{\text{solo}} - (\Psi_p + \Psi\pi)_{\text{raiz}}}{r_{\text{solo}} + r_{\text{raiz}}} \quad (1.13)$$

onde Ψ_p e $\Psi\pi$ 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. 1.10). 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. 1.11). 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.

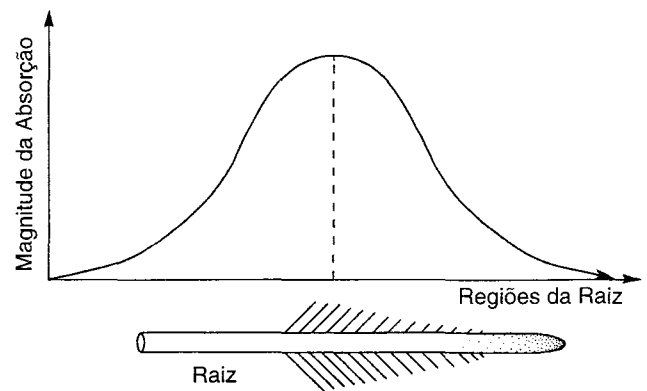


Fig. 1.10 Variação da quantidade de água absorvida nas diferentes regiões das raízes.

As regiões mais maduras das raízes podem possuir camadas externas de tecidos com paredes celulares contendo materiais 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. 1.11). Existem três caminhos possíveis para o movimento

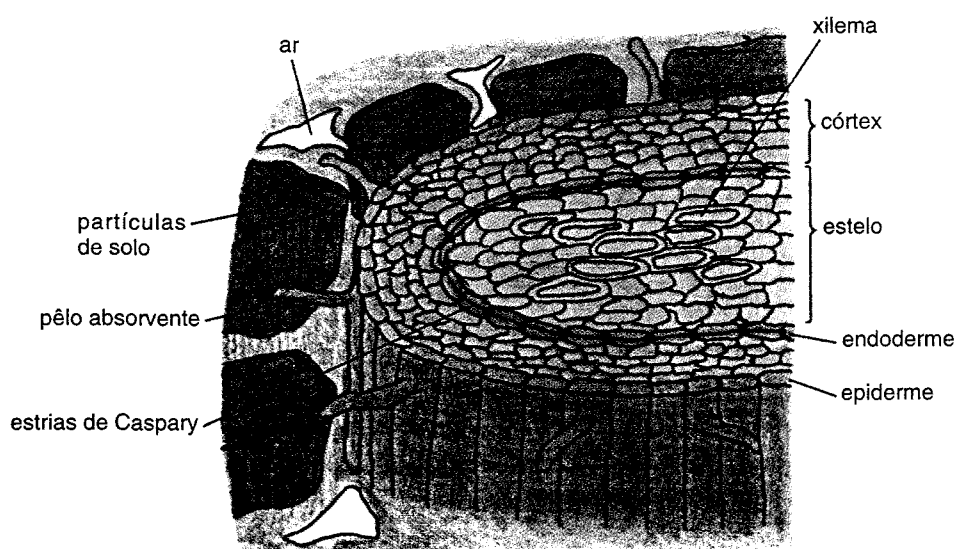


Fig. 1.11 Seção transversal de uma raiz mostrando os diferentes tecidos que vão desde a epiderme (mais externamente) até o xilema (mais internamente) e os pêlos das raízes em íntimo contato com filmes de água que circundam as partículas do solo.

da água da epiderme até a endoderme das raízes: a via apoplasto, transmembrana e simplasto. 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 plasmodesmos (microporos), através dos quais a água caminha de uma célula para outra por meio dos plasmodesmos. 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. 1.11).

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, uma 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 que permanecem com crescimento primário, frequentemente se desenvolvem paredes secundárias espessas. A formação dessas paredes pode não ocorrer em algumas células da endoderme, permanecendo com paredes delgadas. Essas células, com estrias de Caspary, 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 lúmen 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. 1.12A). As células condutoras no xilema têm anatomia especializada que as capacitam 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 pontuações (Fig. 1.12B). As pontuações dos traqueídeos pontiagudos concentram-se nas extremidades,

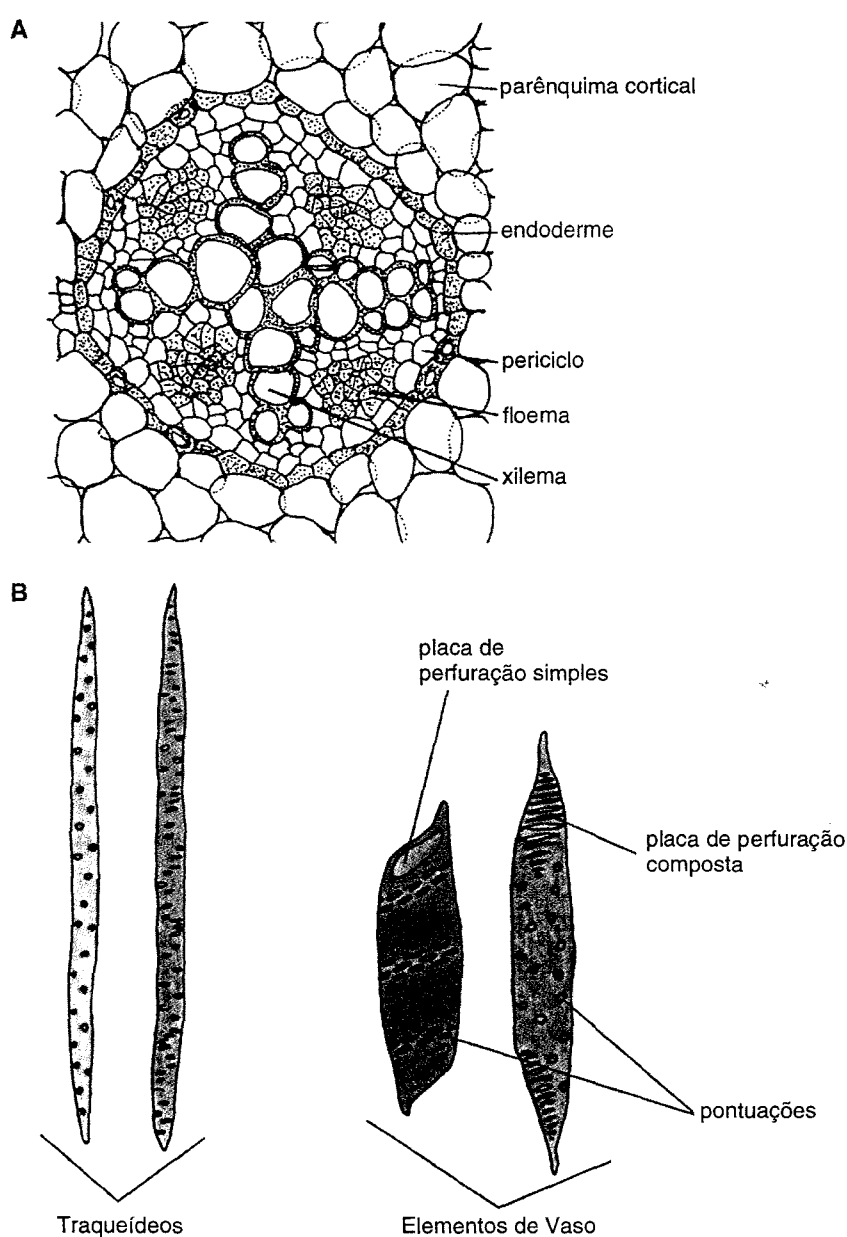


Fig. 1.12 A. Tecido vascular de raízes jovens mostrando os grandes vasos do xilema numa seção transversal. **B.** Comparação estrutural de traqueídeos e elementos de vaso envolvidos no transporte de água pelo xilema.

conectando-os com o traqueídeo vizinho. Os elementos de vaso, além das pontuações, 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.

Os traqueídeos, considerados evolutivamente menos avançados que os elementos de vaso, são 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, via de regra, 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 mais baixa, uma vez que não existem camadas a serem atravessadas com maiores resistências relativamente altas, como o citoplasma e membranas. 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 administradas 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 requerido um $\Delta\Psi_p = 0,02\text{ MPa m}^{-1}$. Esse valor é extremamente inferior ao gradiente de potencial de água ($\Delta\Psi_w$) necessário 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 su-

perfícies 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 $\Delta\Psi_p = 3\text{ MPa}$ ($0,02 + 0,01 = 0,03\text{ MPa m}^{-1} \times 100\text{ m} = 3\text{ MPa}$) para vencer o somatório de todas as resistências.

Dentro desse contexto, o que sempre interessou muito aos fisiologistas de planta 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 ($\Psi\pi$) 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 $\Psi\pi$, 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 exsudarà na superfície cortada por várias horas. Essa pressão pode ser medida a partir do acoplamento de um manômetro à extremidade cortada (Fig. 1.13). 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.

Como se desenvolve a pressão positiva da raiz? As raízes absorvem íons do solo diluído, que são trans-

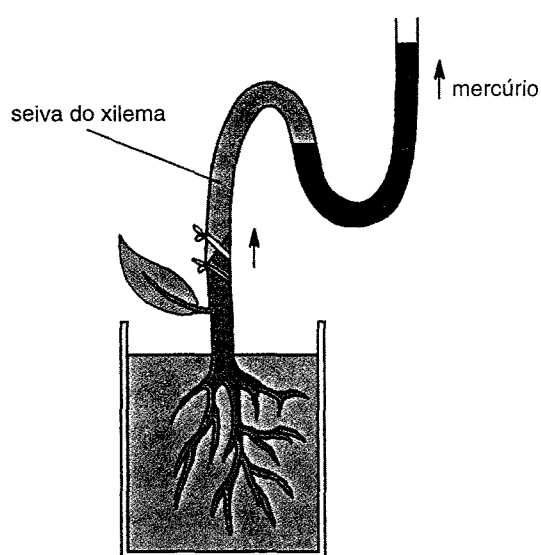


Fig. 1.13 Manômetro para medir a pressão positiva na raiz. A pressão resultante pode ser obtida através da medição do deslocamento que a absorção de água pelas raízes causa na coluna de mercúrio.

portados 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 e 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 rápidas, 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 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*, 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.

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 grupos polares, ao longo da superfície interna do tubo, e as moléculas de água, 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 reposta. 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 potencial de água reduzido 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 mesofilo 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 mesofilo 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 nos interstícios da parede celular (Fig. 1.14). Isso cria meniscos microscópicos curvos na superfície ar-água.

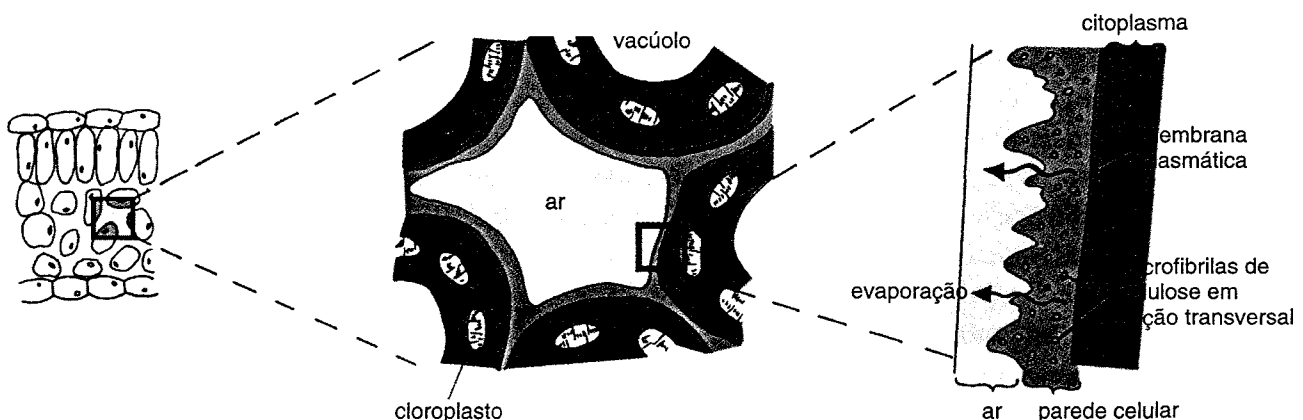


Fig. 1.14 Retração da interface ar-líquido nos interstícios da parede celular originando tensões ou pressões negativas nas folhas. A evaporação ocorre na interface ar-água do filme de água que cobre a parede celular das células do mesofilo. Com o aumento da evaporação, desenvolvem-se meniscos de raios microscópicos cada vez menores. A tensão superficial causa uma pressão negativa na fase líquida. (Modificado de Taiz & Zeiger, 2002.)

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 1.12), 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 mesófilo 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. 1.15). A magnitude da pressão necessária para o retorno da água à superfície cortada é

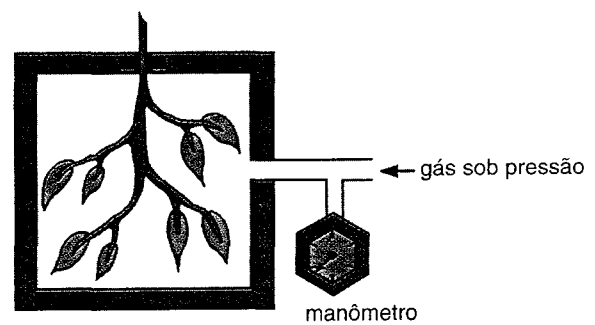


Fig. 1.15 Diagrama de uma bomba de pressão usada para medir a tensão ou pressão negativa da água do xilema. Cortando-se um ramo de uma planta transpirando, a coluna líquida no interior do xilema recua para o interior do vaso, devido à tensão a que ela estava submetida. A pressão necessária para que a seiva possa emergir na extremidade cortada do ramo é equivalente à tensão que existia na água do xilema. A quantificação dessa pressão pode ser feita a partir da medição da pressão injetada na câmara da bomba.

aproximadamente igual à tensão que existia no xilema. Com esse dispositivo, tem-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 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 diâ-

metro 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 a formação inicialmente de bolhas microscópicas na interface água-parede dos elementos traqueais. Essas pequenas bolhas podem coalescer e expandir 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 pontuações 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. 1.16). Desse modo, as pontuações nas paredes do xilema auxiliam no isolamento da bolha de ar num único traqueídeo ou elemento de vaso, restringindo a cavi-

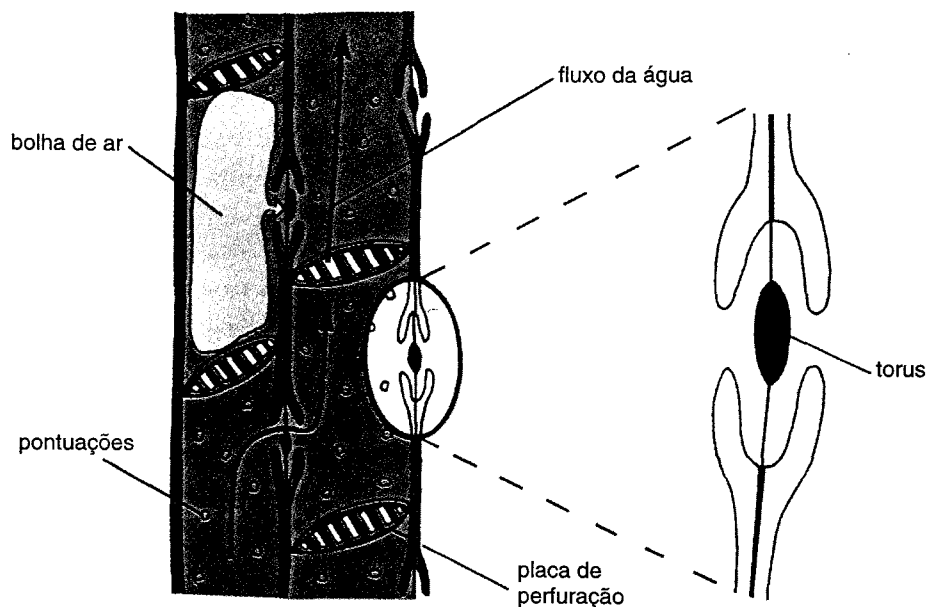


Fig. 1.16 Formação de grandes bolhas de ar no interior do xilema, chamada embolia, como resultado da cavitação. Desvio do fluxo de água para vasos adjacentes em função da embolia.

ção. 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.

De toda a água absorvida pelas plantas, cerca de 95% 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, diversas 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 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. 1.17). A

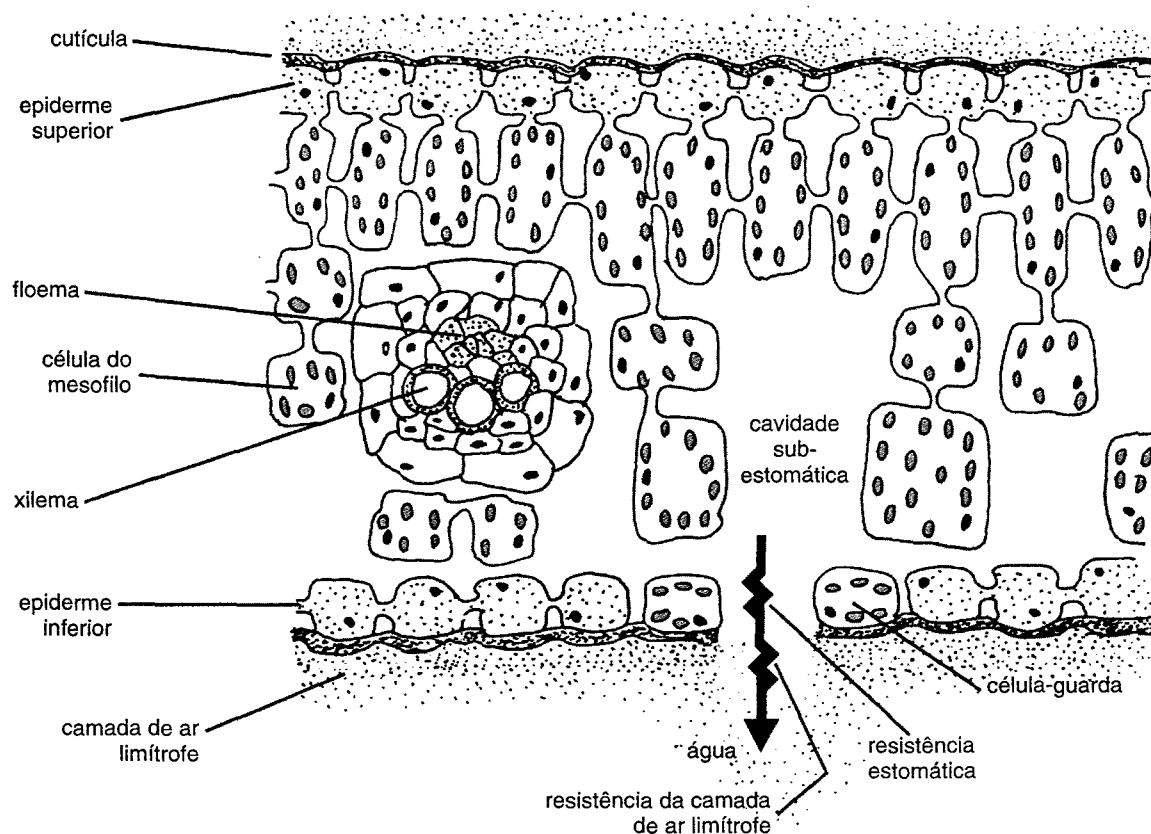


Fig. 1.17 Representação diagramática da lâmina foliar em seção transversal. Note especialmente a presença de cutícula cobrindo as superfícies externas, as resistências à saída da água (resistência estomática e da camada de ar limítrofe), o extenso espaço intercelular com acesso ao ar do ambiente através dos estômatos. Note 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 (pequenos círculos dentro das células) somente nas células da epiderme.

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. 1.18B e C). 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. 1.18).

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 de 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 da água das paredes celulares para o espaço subestomático e a difusão do vapor de água do espaço subestomático para a atmosfera. Acredita-se que grande parte da água evapore da superfície interna das células do mesofilo que rodeiam os espaços de ar subestomáticos. Entretanto, alguns autores têm proposto uma via mais restrita, sugerindo que a água evapora da superfície interna das células da epiderme nos arredores dos estômatos, o que é chamado de *evaporação periestomática*.

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*

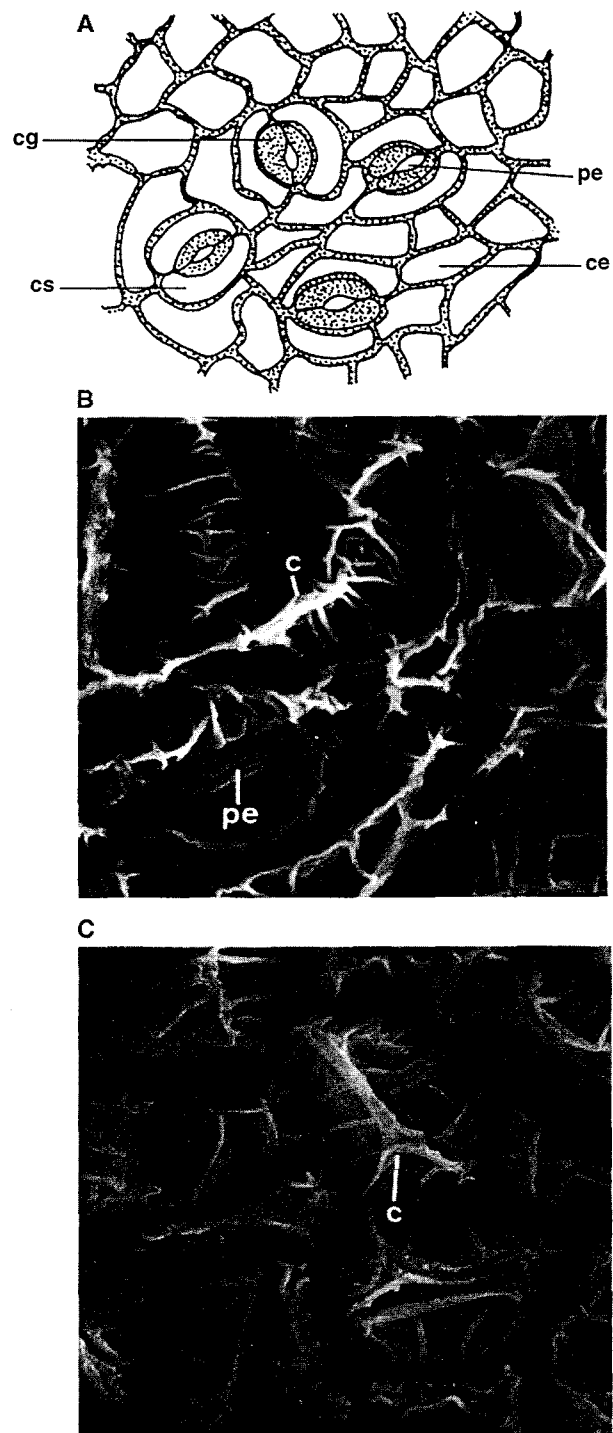


Fig. 1.18 Epiderme da face abaxial de folhas. **A e B.** *Hevea brasiliensis*. **C.** *H. pauciflora*. ce — célula da epiderme; c — cutícula; cs — célula subsidiária; cg — célula-guarda; pe — poro estomático. (Tomado de Medri, 1980.)

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 tam-

bém 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* (ΔCva) 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 (Cva) 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-se 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 à lei de Ohm, em que as resistências estão associadas com cada parte do caminho (Fig. 1.17).

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 (ra), no

caso da transpiração soma-se a esta as *resistências da própria folha* (rf). Entre as rf , a principal é a *resistência dos poros estomáticos* (rs), 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) expressa em s m^{-1} , pela seguinte equação, considerando nesse caso o ΔCva expresso em mol m^{-3} :

$$T = \frac{Cva_{(\text{folha})} - Cva_{(\text{ar})}}{rf + ra} \quad (1.14)$$

onde $Cva_{(\text{folha})}$ é a concentração de vapor de água dentro da folha e $Cva_{(\text{ar})}$ 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 mesófilo 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, frequentemente 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 (Cva) expressa como uma fração da concentração máxima de vapor de água (saturação, $Cva_{(\text{sat})}$):

$$UR = \frac{Cva}{Cva_{(\text{sat})}} \quad (1.15)$$

$$\text{ou, } Cva = UR \times Cva_{(\text{sat})} \quad (1.16)$$

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 meta-

de 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 $0,522 \text{ mol m}^{-1}$, a 20°C é $0,961 \text{ mol m}^{-1}$ e a 30°C é $1,28 \text{ mol m}^{-1}$. 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 pode ter se 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 um requerimento essencial. A transpiração meramente aumenta a velocidade e 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 excluïrem a perda de água sem, simultaneamente, obstarem 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 a 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:

$$\text{Eficiência no uso da água} = \frac{\text{moles de CO}_2 \text{ fixado}}{\text{moles de água transpirada}} \quad (1.17)$$

Considerando os três grupos de plantas C₃, C₄ e MAC (metabolismo ácido das crassuláceas), quanto ao tipo de 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 estão as plantas mais adaptadas à condição de seca, fixando CO₂ predominantemente à noite.

FISIOLOGIA DOS ESTÔMATOS

Na equação 1.14, o numerador ($Cva_{(folha)} - Cva_{(ar)}$) e a resistência da camada de ar limítrofe (ra) são parâmetros controlados fisicamente, sem ne-

nhum 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. 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. Em *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 chamadas *células-guardas*, que margeiam os *poros* (Fig. 1.18). 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. 1.18A). As células-guardas, células subsidiárias e o poro são co-

letivamente chamados de *complexo estomático* ou *aparélho 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 CO_2 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 o *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. 1.19). Uma das características mais preponderante 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, aquela em contato com as células subsidiárias, é mais fina (ver Fig. 1.19). 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. 1.19). 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. 1.17), maximizando assim a difusão de CO_2 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.

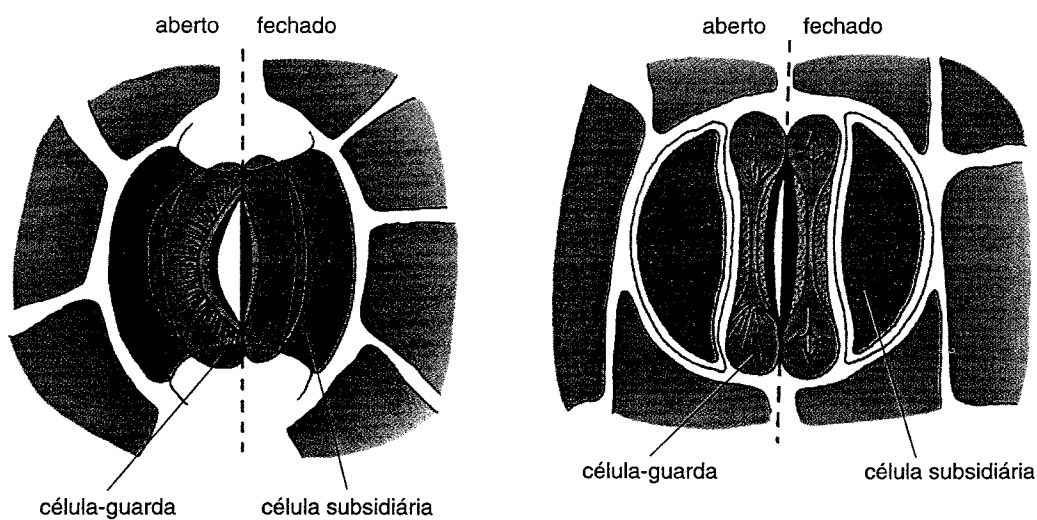


Fig. 1.19 Estômatos apresentando células-guardas do tipo elíptico (à esquerda) e gramináceo (à direita). Observa-se, nas células-guardas dos estômatos abertos, a orientação das microfibrilas de celulose, importantes para o movimento de abertura. As setas em cada estômato indicam a direção da expansão/extensão das células-guardas, que ocorre durante a abertura estomática.

Uma outra característica interessante do complexo estomático é que nele não se observa a presença de plasmodesmos entre as células-guardas e as células da epiderme e do mesofilo (Fig. 1.17). Plasmodesmos 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. 1.17). Os plastídeos das células-guardas são ricos em grãos de amido; entretanto, se uma comparação for feita entre inclusões 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 podem ser 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, plasmodesmos) com os tecidos ad-

acentes. Desse modo, qualquer resposta estomática rápida deve se originar 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 consequente relaxamento de suas paredes.

Para 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 ($\Psi\pi$) 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 aumentam durante o fechamento estomático. O amido é um polímero de glicose, insolúvel em água, de alta massa molecular, que não contribui para o $\Psi\pi$ das células. Segun-

do a hipótese do amido-açúcar, a hidrólise do amido em açúcares solúveis faz com que o $\Psi\pi$ das células-guardas se torne mais negativo, 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. 1.20). O con-

teúdo 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. 1.21). Durante a abertura, boas 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. Essa bomba é estimulada pela atividade fotossintética dos cloroplastos. Essa afirmação tem sido evidenciada pelo uso de fusicocina (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

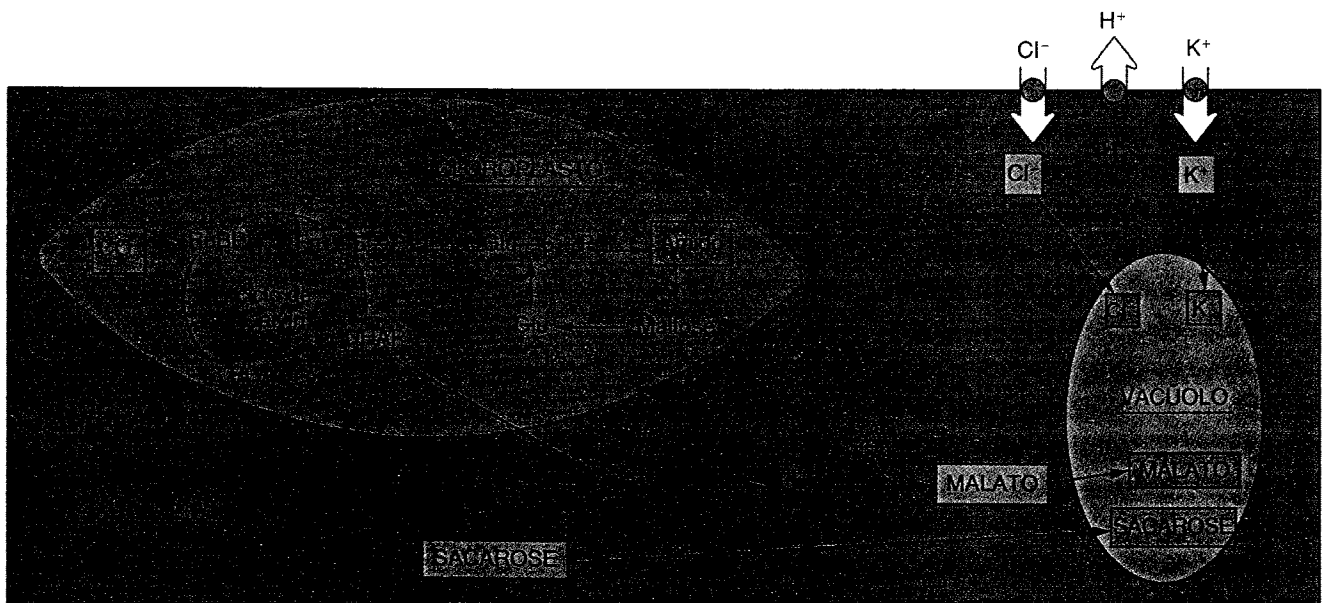


Fig. 1.20 Acúmulo, no vacúolo, de potássio, cloreto, malato e sacarose, que são as moléculas que provocam queda no potencial osmótico das células-guardas, causando absorção de água por essas células e, conseqüentemente, abertura estomática (osmorregulação). Existem três caminhos osmorregulatórios distintos 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. (Modificado de Talbott & Zeiger, 1998.)

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 a 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:

$$\text{Eficiência no uso da água} = \frac{\text{moles de CO}_2 \text{ fixado}}{\text{moles de água transpirada}} \quad (1.17)$$

Considerando os três grupos de plantas C₃, C₄ e MAC (metabolismo ácido das crassuláceas), quanto ao tipo de 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 estão as plantas mais adaptadas à condição de seca, fixando CO₂ predominantemente à noite.

FISIOLOGIA DOS ESTÔMATOS

Na equação 1.14, o numerador ($Cva_{(folha)} - Cva_{(ar)}$) e a resistência da camada de ar limítrofe (ra) são parâmetros controlados fisicamente, sem ne-

nhum 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. 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. Em *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 chamadas *células-guardas*, que margeiam os *poros* (Fig. 1.18). 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. 1.18A). As células-guardas, células subsidiárias e o poro são co-

letivamente chamados de *complexo estomático* ou *aparrelho 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 CO_2 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 o *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. 1.19). Uma das características mais preponderante 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 $5 \mu\text{m}$ de espessura, diferentemente das células típicas da epiderme, que

apresentam paredes de 1 a $2 \mu\text{m}$. A parede dorsal, aquela em contato com as células subsidiárias, é mais fina (ver Fig. 1.19). 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. 1.19). 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 $15 \mu\text{m}$ de largura por cerca de $20 \mu\text{m}$ 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. 1.17), maximizando assim a difusão de CO_2 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.

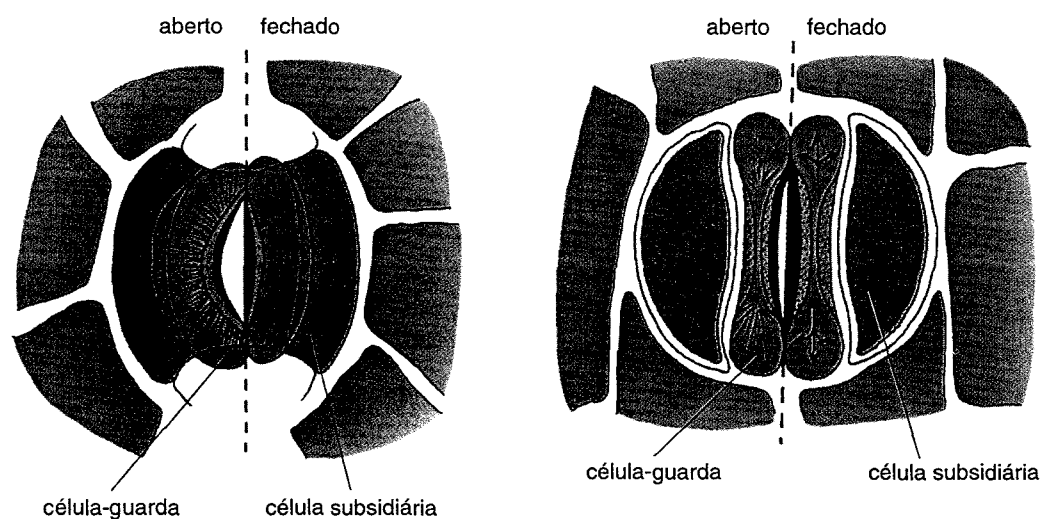


Fig. 1.19 Estômatos apresentando células-guardas do tipo elíptico (à esquerda) e gramináceo (à direita). Observa-se, nas células-guardas dos estômatos abertos, a orientação das microfibrilas de celulose, importantes para o movimento de abertura. As setas em cada estômato indicam a direção da expansão/extensão das células-guardas, que ocorre durante a abertura estomática.

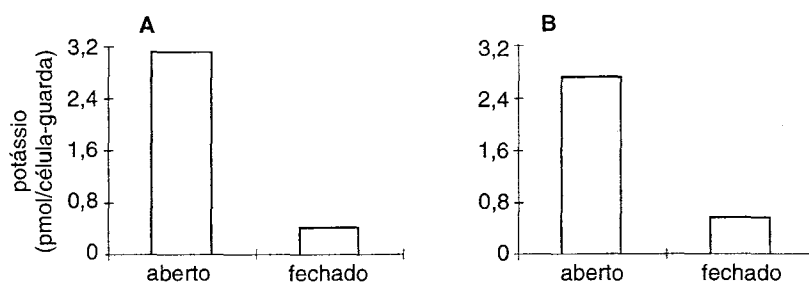


Fig. 1.21 Conteúdo de potássio em células-guardas de estômatos abertos e fechados. A. *Commelina communis*. B. *Vicia faba*. (Modificado de MacRobbie, 1987.)

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 gerada pela bomba de prótons é o que possibilita a absorção passiva de íons potássio, por causar a abertura de canais de potássio regulados por voltagem.

Além do K^+ , o Cl^- e o malato $^{2-}$ também aumentam nas células-guardas iluminadas, contribuindo para a abertura dos estômatos, e diminuem com os estômatos fechados. Esses ânions contribuem para a neutralidade elétrica das células-guardas, visto que ocorre um acúmulo de K^+ (carga positiva) nas células-guardas. O balanceamento é estabelecido parcialmente tanto pela entrada de íons Cl^- quanto pela produção, no citoplasma das células-guardas, de ânions orgânicos como o malato $^{2-}$ com dois grupos COO^- . A contribuição relativa do Cl^- e do malato 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 malato é sintetizado no citoplasma das células-guardas, numa via metabólica que usa esqueletos de carbono gerados na hidrólise do amido. Tem sido observado, em estômatos abertos, que os níveis de malato $^{2-}$ nas células-guardas podem aumentar até seis vezes. Não está claro ainda se a diminuição do conteúdo de malato $^{2-}$ dessas células, durante o fechamento, se deve à utilização desse ânion orgânico como substrato para a respiração ou se é expelido 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 faci-

lite sua absorção pela entrada compartilhada dos íons Cl^- - H^+ , e não por abertura de canais.

Em resumo, o acúmulo de K^+ , Cl^- e malato $^{2-}$ nos vacúolos das células-guardas torna o $\Psi\pi$ mais negativo, diminuindo o Ψ_w . A conseqüente absorção de água aumenta o turgor dessas células e ocorre a abertura dos estômatos (ver Fig. 1.20).

Considerando as hipóteses apresentadas, nota-se que a abertura estomática é um processo que demanda gasto de energia. A presença de cloroplastos, mitocôndrias e enzimas respiratórias nas células-guardas indica 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 malato $^{2-}$ 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 pela manhã, 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. 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 (Ca^{2+}) podem controlar a abertura do poro estomático. A adição de Ca^{2+} a soluções em que se encontram incubados fragmentos de epiderme isolada 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^+ em protoplastos de células-guardas (células cujas paredes foram removidas). Evidências experimentais têm indicado que certos sinais para o fechamento estomático, como o hormônio ácido abscísico (ABA) (ver Cap. 11, Ácido Abscísico) e o escuro, estimulam a absorção de Ca^{2+} para dentro do citoplasma das células-guardas (Mansfield *et al.*, 1990) (no próximo item será abordado mais detalhadamente o papel do ABA e da luz no movimento estomático).

Postula-se que a entrada de Ca^{2+} nas células-guardas provocaria uma despolarização na membrana plasmática, iniciando assim uma cadeia de eventos na qual se inclui a abertura de canais de ânions que permitiria a saída de Cl^- e malato²⁻. Essa perda de ânions iria favorecer a despolarização da membrana, abrindo canais de K^+ e permitindo a saída desse cátion das células-guardas.

Controle do movimento estomático

Fatores ambientais, como o 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 se originar 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 raí-

zes, 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. Ainda não está claro como as células percebem a carência de água que resulta no fechamento estomático mediado pelo ABA. Existem fortes indicações de que o ABA interfere com a bomba de prótons da membrana plasmática, afetando, conseqüentemente, a absorção de K^+ , ou estimulando a saída desse cátion das células-guardas.

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. 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.

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. 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, provavelmente envolvendo criptocromo, um suposto receptor de luz azul.

Diversos estudos têm registrado que a luz azul ativa a bomba de prótons H^+ -ATPase da membrana

plasmática das células-guardas e estimula a biossíntese de malato. 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 malato (Fig. 1.20).

Tem sido sugerido que a resposta à luz azul em condições naturais é importante para a abertura dos estômatos antes do amanhecer (Zeiger *et al.*, 1981). 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 pelo Ca^{2+} e ABA só ocorre 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 o ABA e concentrações elevadas de Ca^{2+} interferem na atividade das bombas de prótons, que é uma resposta ligada ao papel da luz azul.

Em síntese, pautando-se nos resultados e sugestões mencionados, pode-se inferir, com relativa segurança, que o K^+ , Cl^- , malato $^{2-}$ e sacarose estão envolvidos na redução do Ψ_w das células-guardas, favorecendo, por conseguinte, a turgescência destas. O K^+ , o Cl^- e o malato $^{2-}$ 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 .

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 bionergetics. In: Zeiger E, Farquhar GD, Cowas IR (eds). *Stomatal Function*. Stanford University Press, Stanford, CA, 1987, pp 163-193.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley & Sons, Inc, New York, 1999.
- MacRobbie EAC. Ionic relations of guard cells. In: Zeiger E, Farquhar GD, Cowas IR (eds). *Stomatal Function*. Stanford University Press, Stanford, CA, 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.
- Martin ES, Dondin ME, Stevens RA. *Stomata*. Edward Arnold (Publishers) Ltd, London, 1983.
- Medri ME. *Anatomia comparada e correlações anatomo-fisiológicas de seis clones de Hevea spp.* Tese de Doutorado. INPA, Manaus, AM, 1980.
- 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.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc, Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2002.
- Talbot LD, Zeiger E. The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *Journal Experimental of Botany*, 1998; 49:329-337.

Zeiger E, Farquhar GD, Cowan IR. *Stomatal Function*. Stanford Univ Press, Stanford, 1987.

Zeiger E, Field C, Mooney HA. Stomatal opening at dawn: Possible roles of the blue light response in nature. In: H Smith (ed). *Plants and the Daylight Spectrum*. Academic Press, London, 1981, pp 391-407.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

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*, 4th ed. Wadsworth Publishing Company, Inc, Belmont, California, 1995.

Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc, Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2002.

Zeiger E, Farquhar GD, Cowan IR. *Stomatal Function*. Stanford Univ Press, Stanford, 1987.



Nutrição Mineral

Ângela Maria Cangiani Furlani

INTRODUÇÃO

As plantas são organismos autotróficos, capazes de viver num ambiente inteiramente inorgânico, utilizando CO_2 da atmosfera, água e nutrientes do solo. Os animais, por outro lado, são organismos heterotróficos e dependem, para sua existência, de moléculas orgânicas previamente sintetizadas por outros organismos. Todos os organismos vivos, autotróficos ou heterotróficos, precisam drenar substâncias materiais do ambiente para a sua constituição física, para manter o metabolismo, crescimento e desenvolvimento. As plantas estão no início dessa cadeia alimentar, utilizando-se de substâncias inorgânicas do ambiente para construir moléculas orgânicas, e servindo-se, assim, de material para a organização dos seres heterotróficos, incluindo os seres humanos. O estudo da nutrição das plantas teve seu início com Aristóteles (350 aC), com a teoria humística, que se baseava na idéia de que as plantas se alimentam do húmus e, após a morte, retornam ao húmus. Em 1563, o francês Palissy já possuía uma idéia clara da contribuição do sal do solo para a vida da planta, com base em observações da cinza obtida por incineração do vegetal. Quase 90 anos depois, em 1652, o holandês van Helmont, médico e alquimista, postulou que as plantas absorvem água e sintetizam suas substâncias a partir dela, com base em um experimento com uma estaca de salgueiro de 2,5 kg plantada em um vaso com 150 kg de terra, irrigado com água de chuva

durante 5 anos. Após esse tempo, colheu um arbusto de 82 kg de matéria seca, verificando que o solo do vaso diminuiu apenas 180 g, o que atribuiu a perdas acidentais, e concluiu, erroneamente, que a água era o único alimento das plantas. Em 1766, o inglês Woodward cultivou plantas em vasos, irrigando com água de chuva, torneira, enxurrada e líquido de esgoto diluído. Verificou que, quanto mais suja a água, maior era o crescimento das plantas, concluindo que a *terra*, e não a *água*, era o material constituinte das plantas. Em 1774, Priestley descobre o oxigênio e que as plantas purificam o ar liberando oxigênio. Mas Scheele, nessa mesma época, demonstra que as plantas também consomem o oxigênio. Ingenhousz, em 1776, esclareceu, com seus experimentos, que as plantas liberam mais oxigênio à luz do dia e o consomem mais quando estão à sombra ou à noite. Em 1796, esse mesmo cientista demonstrou ter noção da essencialidade de nutrientes, afirmando que seria preciso descobrir as substâncias de que as plantas necessitariam, sem as quais não poderiam sobreviver. Em 1776, Lavoisier estabelece as bases da química moderna, após o que surge uma série de trabalhos sobre a fotossíntese e a nutrição mineral de plantas. Em 1804, o suíço Saussure (1767–1845) demonstrou que a planta obtinha o carbono do CO_2 atmosférico; que o hidrogênio e o oxigênio eram assimilados na proporção em que se encontram na água (2:1) e que o aumento na matéria seca era devido ao C, H e O absorvidos; *que o solo era o fornecedor de minerais indispensáveis à vida*

da planta. Boussingault (a partir de 1830) iniciou experimentos em campo, na França, e comprovou que o solo é o fornecedor de minerais indispensáveis à vida da planta, cultivando plantas em substrato sólido inerte, irrigado com solução nutritiva (água + sais dissolvidos).

Os tratados modernos sobre a teoria da nutrição de plantas usualmente se referem a livros publicados pelo alemão Justus von Liebig entre 1840 e 1855. Liebig compilou toda a informação da época a respeito da importância dos elementos minerais para a vida das plantas. Graças a ele, a nutrição mineral de plantas foi estabelecida como uma disciplina científica. Em seus relatos, escreveu sobre “A química agrícola e sua aplicação na agricultura e fisiologia”, e postulou, mais pela observação do que pela experimentação precisa, que os elementos minerais essenciais para as plantas eram: N, P, K, Ca, Mg, S, Si, Na e Fe, e que todos provêm do solo, exceto os elementos essenciais C, H, O, que são provenientes da água e da atmosfera. Observou, ainda, que espécies diferentes necessitam de quantidades diferentes dos elementos; e que alguns solos são deficientes em alguns elementos e podem ser corrigidos pela adubação. Derrubou a teoria de que o húmus seria o alimento utilizado pelas plantas, sendo, porém, uma fonte de nutrição para estas. A Liebig é atribuída a Lei do Mínimo, que diz ser a produção de uma planta limitada ao elemento mais escasso entre todos os nutrientes presentes no solo. Isto é, a produção fica limitada quando pelo menos um dos elementos necessários está disponível em quantidade inferior à requerida pela planta (nutriente limitante).

Os conhecimentos em nutrição mineral de plantas e deficiências de elementos minerais mostrando a sua essencialidade têm sido atribuídos a pesquisas originais do próprio Liebig. Entretanto, em recente e específica revisão de literatura, Ploeg *et al.* (1999) revelam que o agrônomo e também químico alemão Carl Sprengel (1787–1859) conduziu estudos pioneiros em química agrícola durante a primeira metade do século XIX. Sprengel publicou, em 1826 (14 anos antes de Liebig), um artigo no qual a teoria do húmus foi refutada, e outro artigo extenso, em 1828, onde formulou, em essência, a Lei do Mínimo. Listou, no total, 20 elementos que ele considerou como nutri-

entes das plantas, incluindo N, P, K, S, Mg e Ca, afirmando que a planta não crescerá se um dos elementos necessários estiver faltando na quantidade exigida pela natureza da espécie. Para evitar disputa de prioridades e para reconhecer e comemorar as descobertas de ambos os cientistas, a Associação Alemã de Estações Experimentais de Agricultura e Pesquisa criou a medalha Sprengel-Liebig. E propõe à comunidade científica internacional de ciência do solo e da planta que todos reconheçam Sprengel como um co-descobridor da química agrícola e que a Lei do Mínimo seja chamada, daqui por diante, de **Lei do Mínimo de Sprengel-Liebig** (Ploeg *et al.*, 1999).

Entre 1840 e 1900, considerado o quinto período da nutrição mineral de plantas, outros cientistas trouxeram grandes contribuições, destacando-se os trabalhos de Sachs e Knop (1860–1865), a partir dos quais surgiram outros trabalhos com soluções nutritivas cada vez mais puras e com métodos mais avançados de análise química quantitativa de plantas, que permitiram a comprovação dos elementos essenciais.

OS ELEMENTOS MINERAIS NAS PLANTAS. DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO. CRITÉRIOS DE ESSENCIALIDADE

A partir do final do século XIX, os estudos extensivos sobre a composição das plantas cultivadas em diferentes solos permitiram compreender que a presença e a concentração de um elemento mineral não poderiam ser critérios para a demonstração da sua essencialidade. A planta absorve pelas raízes elementos minerais nem sempre essenciais à sua vida e ao seu ciclo reprodutivo, possuindo uma capacidade de absorção seletiva limitada, podendo absorver também elementos não-essenciais e/ou mesmo tóxicos. Portanto, não seria possível comprovar a essencialidade de um elemento pela composição química de plantas cultivadas em solos. Uma vez compreendido esse fato, os cientistas passaram a trabalhar com solução nutritiva e areia de alta pureza, em experimentos com omissão de elementos. Essas técnicas permitiram caracterizar os elementos essenciais e compreender melhor suas funções nas plantas.

Os *elementos minerais essenciais*, também denominados *nutrientes minerais* das plantas, foram descobertos ao longo do tempo, e são aqueles que atendem aos três seguintes *critérios de essencialidade*: (1) um elemento é essencial quando a planta não consegue completar seu ciclo de vida na sua ausência; (2) o elemento tem função específica e não pode ser substituído; (3) o elemento deve estar envolvido diretamente no metabolismo da planta, fazendo parte de um constituinte essencial (por exemplo, uma enzima), ou exigido para um passo metabólico específico (por exemplo, numa reação enzimática).

Não podem ser considerados essenciais os elementos minerais cuja presença no meio neutralizam efeitos químicos, físicos ou biológicos desfavoráveis compensando o efeito tóxico de outros, ou substituindo parcialmente as funções menos específicas de um elemento essencial. Por exemplo, os elementos que substituem parcialmente a função de manutenção da pressão osmótica (função não-essencial) são denominados benéficos.

Os nutrientes minerais essenciais conhecidos até este momento estão relacionados na Tabela 2.1. Com a contínua purificação dos sais e com o avanço nas técnicas analíticas, essa lista pode aumentar e outros elementos minerais, exigidos pelas plantas em quantidades muito pequenas, podem vir a ser considerados essenciais. Para as plantas superiores, a essencialidade de 14 elementos minerais está bem estabelecida, embora a exigência do cloro e do níquel esteja restrita a um limitado número de espécies de plantas. Entre esses elementos, aqueles exigidos em maiores quantidades pelas plantas são denominados *macronutrientes* (N, P, K, Ca, Mg e S) e aqueles exigidos em pequenas quantidades são denominados *micronutrientes* (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn).

Além desses elementos minerais, são também elementos químicos essenciais o C, H e O, que a planta retira principalmente do ar e do solo, na forma de CO₂ e de H₂O. Esses elementos foram agrupados entre os macronutrientes.

O silício (Si) e o cobalto (Co) foram considerados, a princípio, como elementos essenciais para as

TABELA 2.1 Elementos essenciais às plantas superiores: a descoberta e demonstração da essencialidade

Elemento (símbolo)	Descobridores	Ano	Demonstração da Essencialidade	Ano
Carbono (C)			Saussure	1804
Hidrogênio (H)			Saussure	1804
Oxigênio (O)	Priestley, Scheele	1774	Saussure	1804
Nitrogênio (N)	Rutherford	1772	Saussure	1804
Fósforo (P)	Brand	1772	Ville	1860
Potássio (K)	Davy	1807	Sachs and Knop	1860, 1865
Cálcio (Ca)	Davy	1807	Sachs and Knop	1860, 1865
Magnésio (Mg)	Davy	1808	Sachs and Knop	1860, 1865
Enxofre (S)			Sachs and Knop	1865
Ferro (Fe)			Sachs and Knop	1860, 1865
Manganês (Mn)	Scheele	1774	Mazé, McHargue	1915, 1922
Boro (B)	Gay-Lussac, Thenard	1808	Warington	1923
Zinco (Zn)			Sommer and Lipman	1926
Cobre (Cu)			Lipman and McKinney	1931
Molibdênio (Mo)	Hzeltm		Arnon and Stout	1938
Cloro (Cl)	Schell	1774	Broyer et al.	1954
Níquel (Ni)			Brown et al.	1987

Fontes: Malavolta (1980); Glass (1983); Marschner (1995).

plantas superiores; entretanto, mais recentemente, têm sido classificados como elementos benéficos, juntamente com o sódio (Na), por serem essenciais a um número muito restrito de espécies. O Na e o Si são abundantes na biosfera e são exigidos por algumas espécies de plantas em quantidades pequenas. O Co é exigido pelas leguminosas fixadoras de N₂ atmosférico e o Si por algumas gramíneas. O Se e o Al são também considerados elementos benéficos para algumas espécies, em pequenas quantidades, como será discutido em item específico adiante.

Os micronutrientes são constituintes de moléculas de enzimas ou ativadores enzimáticos e são exigidos em quantidades muito pequenas. Por outro lado, os macronutrientes são constituintes de compostos orgânicos, como proteínas e ácidos nucléicos, ou atuam no controle osmótico. As concentrações médias desses nutrientes na matéria seca das plantas, consideradas adequadas para um crescimento normal, são mostradas na Tabela 2.2. Os valores podem variar consideravelmente, dependendo da espécie, da idade da planta e da quantidade dos elementos presentes no meio de crescimento.

MECANISMOS DE CONTATO ENTRE AS RAÍZES DAS PLANTAS E O SOLO

O suprimento de nutrientes para as raízes, que crescem no solo, depende dos atributos físicos e químicos desse solo, da espécie iônica do nutriente e das características morfológicas e fisiológicas das raízes.

As raízes das plantas entram em contato com a solução do solo de onde retiram os nutrientes minerais de que necessitam. Existem três mecanismos responsáveis pelo movimento de íons da solução do solo para a superfície das raízes: (1) fluxo de massa; (2) interceptação radicular; e (3) difusão.

Fluxo de massa é o movimento de nutrientes da solução do solo em direção à superfície das raízes (rizosfera); é causado pelo fluxo convectivo da água ao ser absorvida pela planta. A absorção de água, por sua vez, depende do reservatório de água do solo e do potencial interno de água da planta que está relacionado às condições atmosféricas de temperatura e umidade.

Nutrientes	Concentração na Matéria Seca			Número Relativo de Átomos
	$\mu\text{mol g}^{-1}$	mg kg^{-1}	g kg^{-1}	
Molibdênio (Mo)	0,001	0,1		1
Níquel (Ni)	~0,001	~0,1		1
Cobre (Cu)	0,10	6		100
Zinco (Zn)	0,30	20		300
Manganês (Mn)	1,0	50		1.000
Ferro (Fe)	2,0	100		2.000
Boro (B)	2,0	20		2.000
Cloro (Cl)	3,0	100		3.000
Enxofre (S)	30		1	30.000
Fósforo (P)	60		2	60.000
Magnésio (Mg)	80		2	80.000
Cálcio (Ca)	125		5	125.000
Potássio (K)	250		10	250.000
Nitrogênio (N)	1.000		15	1.000.000

Fontes: Epstein (1965) e Brown *et al.* (1987 a,b).

A **interceptação radicular** corresponde à quantidade de nutrientes que as raízes encontram disponíveis na rizosfera à medida que se desenvolvem, não dependendo do movimento deles no solo.

A **difusão** do nutriente do solo para a superfície radicular acontece quando a absorção pela planta é maior do que o suprimento pelos dois mecanismos citados, criando um gradiente de concentração da rizosfera para o meio externo. Esse gradiente de concentração faz com que o nutriente se mova da área de maior concentração para a de menor concentração (rizosfera). Esse é um processo complexo que depende de vários fatores do solo, como a tortuosidade (também chamada de fator de impedância) e a temperatura. A tortuosidade varia com a umidade, densidade e textura do solo.

A importância relativa de cada um desses mecanismos de movimento do nutriente no solo para a planta depende da espécie iônica envolvida, do genótipo da planta, da densidade de raízes e do fluxo de água na planta. Isso significa que a contribuição de cada mecanismo de chegada do nutriente à raiz varia com o nutriente, com a cultura e com as condições ambientais do solo e da atmosfera. Por exemplo,

para o milho, considerando-se uma adubação adequada para uma produção de 9.500 kg ha⁻¹, a quantidade aproximada de nutrientes que chega às raízes por interceptação radicular pode variar de 1% (N), até 29% (Ca); por fluxo de massa, de 5% (P), 71% (Ca), 79% (N), 87% (Mg) até 98% (S); e, por difusão, de 20% (N) até 93% (P). De maneira geral, o fluxo de massa é o maior contribuinte para o suprimento de Ca, Mg, N e S para a rizosfera. Já a difusão é mais importante para o K, P e micronutrientes. Entretanto, dependendo da espécie e do tipo de sistema radicular, o fluxo de massa pode ter importância igual ou superior à difusão no suprimento de K às raízes. Os parâmetros morfológicos das raízes (densidade, comprimento e superfície) são muito significativos para a aquisição de nutrientes do solo pelas plantas.

A chegada dos nutrientes à superfície radicular apenas garante a sua disponibilidade para as plantas, porém sua absorção vai depender do contato deles com as membranas das células das raízes e da espécie iônica presente na rizosfera. Assim sendo, um nutriente biodisponível ou fitodisponível é aquele que está presente na solução do solo na forma iônica e pode se mover para o sistema radicular (Tabela 2.3).

TABELA 2.3 Formas iônicas dos nutrientes minerais preferencialmente assimiláveis pelas plantas		
Nutrientes Minerais	Formas Preferenciais de Absorção pelas Plantas	
	Iônicas na Solução do Solo	Gasosas na Atmosfera
Nitrogênio (N)	NO ₃ ⁻ e NH ₄ ⁺	N ₂
Fósforo (P)	H ₂ PO ₄ ⁻	
Potássio (K)	K ⁺	
Cálcio (Ca)	Ca ²⁺	
Magnésio (Mg)	Mg ²⁺	
Enxofre (S)	SO ₄ ²⁻	SO ₂
Boro (B)	H ₃ BO ₃ ⁽⁰⁾	
Cloro (Cl)	Cl ⁻	
Cobre (Cu)	Cu ²⁺	
Ferro (Fe)	Fe ²⁺	
Manganês (Mn)	Mn ²⁺	
Molibdênio (Mo)	MoO ₄ ²⁻	
Níquel (Ni)	Ni ²⁺	
Zinco (Zn)	Zn ²⁺	

Fonte: Barber (1995); Mengel e Kirkby (1987); Marchner (1995).

A ABSORÇÃO IÔNICA PELAS CÉLULAS DAS RAÍZES

Características gerais da absorção iônica pelas plantas inferiores e superiores

a) *Seletividade*: As plantas possuem a característica singular de seletividade iônica, isto é, apresentam uma preferência pela absorção de alguns íons nutrientes, enquanto outros são discriminados ou quase excluídos.

b) *Acumulação contra um gradiente de concentração*: A concentração de determinado nutriente mineral pode ser muito maior no interior das células das raízes do que na solução externa.

c) *Variabilidade do germoplasma*: Existe uma grande variação interespecífica e intra-específica nas características de absorção dos nutrientes.

As células das raízes regulam a entrada de alguns elementos que parecem ser os de maior demanda, mas, por outro lado, podem absorver elementos que não têm função ou que podem mesmo ser tóxicos. Como explicar? A capacidade das células das raízes de plantas terrestres de selecionar determinados elementos para a absorção e excluir outros, bem como de acumular determinados nutrientes contra um gradiente de concentração, tem sido motivo de investigação há décadas. Alguns exemplos das mudanças que ocorrem na concentração de alguns nutrientes na seiva de raízes de milho e feijão

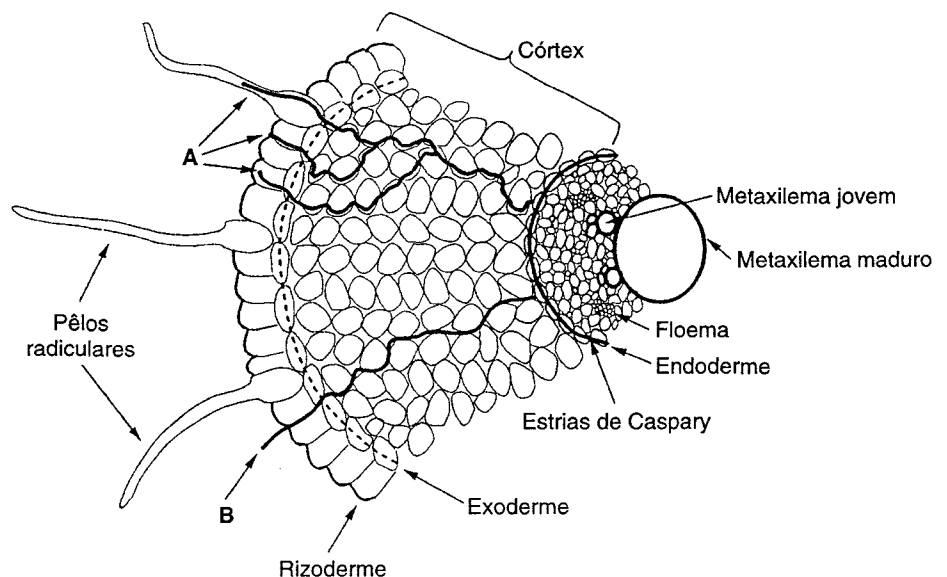
foram observados após 4 dias em solução nutritiva: a concentração dos nutrientes diminuiu drasticamente na solução de maneira diferente para as espécies e para os nutrientes. Já a concentração dos nutrientes determinada na seiva das raízes foi bem maior que a do meio externo após esse período, sendo a demanda ou exigência por determinado nutriente variável entre as duas espécies. Assim, foi determinada, na seiva das raízes de feijão, a metade da concentração de K encontrada na de milho; três vezes maior concentração de Ca, 10 vezes maior de Na, duas vezes maior de fosfato, a metade da de sulfato e similar de nitrato.

Para entender todos esses processos envolvidos na absorção iônica, é preciso acompanhar o caminho que os solutos da solução do solo (ou solução nutritiva) percorrem através da parede celular das raízes e da membrana plasmática para chegarem ao citoplasma e, através da membrana tonoplasto, para chegarem ao vacúolo.

O caminho dos solutos do meio exterior para o apoplasto das raízes

O *apoplasto* é o espaço entre as células vegetais constituído pelas paredes celulares. O movimento de solutos de baixa massa molecular (íons, ácidos orgânicos, aminoácidos e açúcares) através da *parede celular* de células das raízes representa um processo não-metabólico, passivo, dirigido por difusão ou fluxo de massa (Figs. 2.1 e 2.2).

Fig. 2.1 Esquema parcial de um corte transversal de uma raiz de milho mostrando as vias: (A) simplástica e (B) apoplástica de transporte iônico radial até a endoderme. Após a endoderme, o transporte iônico até o xilema é obrigatoriamente via simplástica. (Reproduzido de Marschner, 1995, 2.ª ed., p.66, com permissão de Elsevier.)



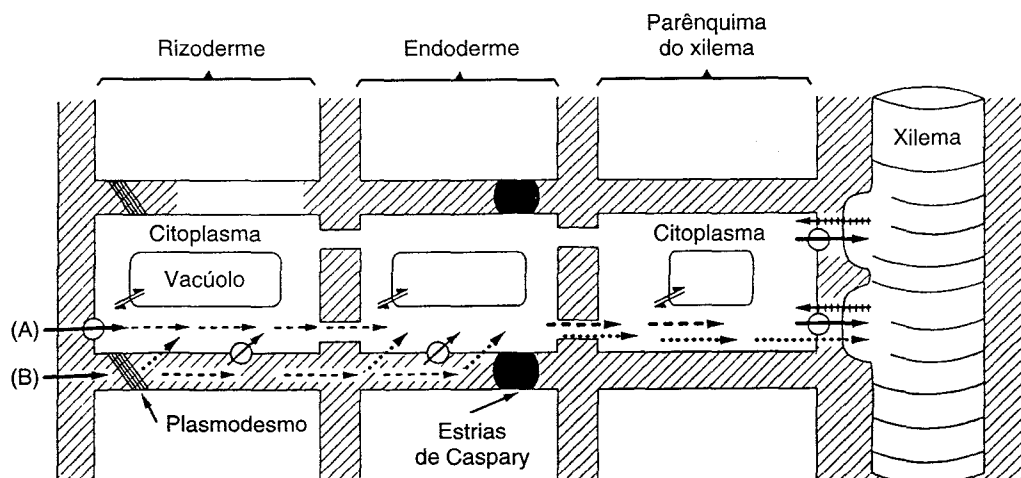


Fig. 2.2 Diagrama das vias simplástica (A) e apoplástica (B) de transporte iônico radial através da raiz até o xilema: transporte ativo \rightarrow ; reabsorção \leftarrow (Läuchli, 1976, reproduzido de Marschner, 1995, 2.^a ed., p.71, com permissão de Elsevier.)

As paredes celulares consistem em uma rede de fibras de celulose, hemicelulose e glicoproteínas. As glicoproteínas constituem 5 a 10% da matéria seca da parede celular. Essa rede contém macroporos e microporos de até 5 nm (nanômetros) de diâmetro, que não oferecem obstáculo ao movimento dos solutos com ou sem carga: são os espaços livres. Esses poros são bem maiores que os raios iônicos dos nutrientes, o que permite que esses íons se movam livremente nesse espaço. Solutos de alta massa molecular (quelatos de metal, toxinas ou vírus e outros patógenos) são fortemente impedidos de passar no apoplasto, pelo tamanho dos poros aí existentes. Os quelatos de cátions permitem maior disponibilidade do cátion na solução do solo, evitando a adsorção ou fixação deles nas cargas negativas das argilas e da matéria orgânica do solo, porém dificilmente penetram as paredes celulares devido ao tamanho de suas moléculas, muito maior que o diâmetro dos poros aí existentes. Entretanto, as fibras das paredes celulares contêm grupos carboxílicos ($R-COO^-$) que podem interagir com os íons, atuando como trocadores de cátions. Dessa forma, no espaço ocupado pelos microporos pode haver um acúmulo de cátions, restringindo a passagem dos ânions, que são repelidos e se acumulam nos macroporos. Por causa dessas cargas negativas no apoplasto e da restrição provocada no movimento dos

solutos com carga, essa região ocupada pelos microporos e macroporos foi denominada de *espaço livre aparente* (ELA). O *espaço livre aparente* compreende o *espaço livre da água* (EL água), por onde se movem livremente a água e os solutos com e sem carga (macroporos), e o *espaço livre de Donnan* (ELD), onde ocorre a troca de cátions e a repulsão dos ânions (microporos) (Fig. 2.3). A distribuição de íons dentro do *espaço livre aparente* do apoplasto nas paredes celulares das raízes caracteriza-se pela mesma

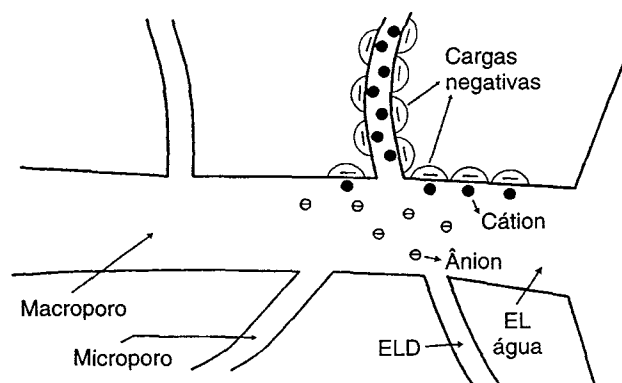


Fig. 2.3 Diagrama representativo do sistema de poros da parede celular que compõe o espaço livre aparente entre as células da rizoderme: ELD = espaço livre de Donnan; EL água = espaço livre da água. Espaço livre aparente (ELA) = ELD + EL água. (Reproduzido de Marschner, 1995, 2.^a ed., p.9, com permissão de Elsevier.)

distribuição que ocorre na superfície das partículas de argila do solo, negativamente carregadas, que também é denominada de distribuição de Donnan.

Quanto maior a valência do íon, mais fortemente este fica adsorvido à parede da célula no apoplasto, nos microporos. Assim, íons bivalentes, como o Ca^{2+} , são preferencialmente ligados nos pontos de troca de cátions, em relação aos íons monovalentes, como o K^+ . As espécies de plantas diferem consideravelmente quanto à capacidade de troca de cátions (CTC) das raízes, ou seja, quanto ao número de pontos de troca de cátions localizados nas paredes celulares. As espécies de dicotiledôneas têm muito maior CTC do que as de monocotiledôneas (Tabela 2.5). A CTC real geralmente é menor em raízes intactas, devido aos impedimentos estruturais (epiderme e estrias de Caspary na endoderme). Apenas parte dos pontos de troca do ELD fica diretamente acessível aos cátions da solução externa, e parte dessas estruturas é destruída quando se determina a CTC das raízes. Entretanto, as diferenças relativas mostradas na Tabela 2.4 são as que tipicamente existem entre as espécies.

A adsorção de cátions, bi e polivalentes, no ELA aumenta a sua concentração no apoplasto e nas vizinhanças dos locais de absorção na membrana plasmática. Como resultado desse efeito indireto, existe uma correlação positiva entre CTC e a relação de conteúdo de Ca^{2+} e K^+ em diferentes espécies de plantas. Em solos ácidos foi observada competição entre as formas iônicas do Al (mono, bi ou polivalente) e o Mg^{2+} pelos pontos de ligação no apoplasto das raízes, fator esse responsável pela indução de deficiência de

Mg^{2+} em espécies anuais e de floresta. As cargas negativas das paredes celulares são particularmente importantes para a retenção de cátions micronutrientes, como o Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} e Fe^{2+} , pois a atração desses cátions para esses pontos forma um reservatório no apoplasto que favorece sua subsequente absorção para o interior das células das raízes. Quando esses micronutrientes são fornecidos na forma iônica, sua concentração na parte aérea e nas raízes é muitas vezes maior do que quando fornecidos na forma de complexos do tipo Zn-EDTA ou outro. Assim sendo, quando supridos em formas iônicas, os cátions micronutrientes polivalentes podem ser encontrados em concentrações mais elevadas nas raízes em comparação com a parte aérea, simplesmente como resultado das ligações preferenciais no apoplasto das células radiculares (Tabela 2.5). Os complexos não teriam uma ligação substancial com as cargas negativas e também não seriam livremente permeáveis nos poros do ELA. O reservatório de cátions no apoplasto da raiz pode servir como reservatório transitório para metais pesados, como ferro e zinco, que podem ser mobilizados por exsudados de raízes específicos (como os sideróforos) e, subsequentemente, transportados para a parte aérea. O tamanho desse reservatório provavelmente tem grande importância na diferença entre genótipos para a sensibilidade à deficiência de micronutrientes.

Como já foi visto, antes de alcançarem as membranas das células das raízes, os íons atravessam as paredes celulares (espaços intercelulares que formam

TABELA 2.4	
Capacidade de troca de cátions (CTC) na matéria seca de raízes de diferentes espécies de plantas	
Espécies	CTC
	mmol kg^{-1}
Trigo	230
Milho	290
Feijão	540
Tomate	620

Fonte: Keller e Deuel (1957) em Marschner, 1995.

TABELA 2.5		
Absorção e transporte de zinco em plantas de cevada (unidade na base de matéria seca, por 24 horas), em solução nutritiva com 1,0 mg L^{-1} de Zn		
Taxa de Absorção e Transporte de Zn		
Forma de Zn	Raízes	Parte aérea
	$\mu\text{g g}^{-1} (24 \text{ h})^{-1}$	
ZnSO_4	4.598	305
ZnEDTA	45	35

Fonte: Barber e Lee (1974) em Marschner (1995).

o apoplasto). Em geral, os movimentos de íons e outros solutos de baixa massa molecular (por difusão ou fluxo de massa) não ficam restritos aos espaços intercelulares da superfície mais externa da epiderme radicular. Os íons e solutos podem fluir passivamente pelos espaços intercelulares da segunda camada de células da epiderme radicular e do córtex, que também fazem parte do apoplasto, até chegarem à barreira principal, que é a **endoderme** (Fig. 2.4). A **endoderme** é a camada mais interna do córtex da raiz e possui incrustações hidrofóbicas de suberina (estrutura denominada estrias de Caspary) que constituem uma barreira efetiva para o fluxo passivo de solutos e água. Entretanto, o volume de tecido de raiz acessível ao fluxo passivo de solutos (o *espaço livre*) representa uma pequena fração do volume total da raiz (apenas 5% em milho). A proporção efetiva desse fluxo dentro do espaço livre vai depender de vários fatores, como a taxa de transpiração, concentração dos solutos e formação de pêlos radiculares. O transporte radial de água pelo apoplasto varia de menos de 1,0% até 76–98%, dependendo da condutividade hidráulica na zona da raiz considerada. Existe uma tendência para superestimar a importância do espaço livre na absorção de íons pelas raízes. Para os nutrientes minerais, a grande proporção do transporte radial de íons e solutos nas raízes ocorre via simplasto, seja iniciando pelas células mais externas da raiz e pêlos radiculares ou pela endoderme (Fig. 2.4). Os íons e solutos atravessam a membrana plasmática, o citoplasma e passam de uma célula para outra pelos **plasmodesmos**, que são canais de ligação entre os citoplasmas das células contíguas.

Via simplasto: transporte de solutos através das membranas das células

A membrana plasmática representa uma barreira efetiva tanto para a entrada de solutos na célula quanto para a sua saída desta. Nessa membrana predominam locais de seletividade na absorção de cátions e ânions, e locais de transporte ativo em ambas as direções.

A outra barreira é representada pelo tonoplasto, membrana que envolve o vacúolo. O vacúolo nas células vegetais compreende 80–90% do volume da célula. É o compartimento de reserva de solutos (íons, açúcares, ácidos orgânicos e outros metabólitos). Embora a membrana plasmática e o tonoplasto sejam as principais biomembranas envolvidas diretamente na absorção e transporte de solutos nas raízes, é importante lembrar que existe a compartimentação pelas biomembranas de outras organelas, como a mitocôndria e o cloroplasto, com seus próprios sistemas regulatórios de transporte (entrada e saída) de solutos do citoplasma.

ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DAS MEMBRANAS

As membranas da célula vegetal são formadas por camadas de lipídios polarizados e proteínas intrínsecas e extrínsecas. Os lipídios polarizados constituem-se de fosfolipídios, glicolipídios e sulfolipídios. A membrana plasmática é, portanto, uma estrutura complexa cuja composição média é de aproximadamente 55% de proteínas (proteínas estruturais e en-

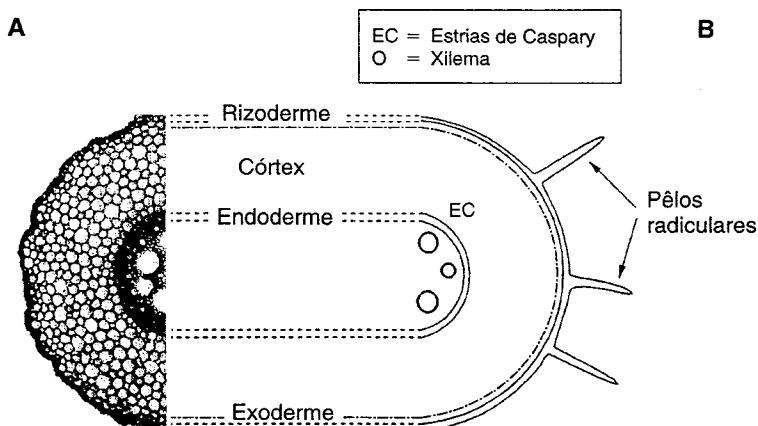


Fig. 2.4 Corte transversal (A) e corte esquemático (B) de uma área diferenciada de raiz de milho. (Reproduzido de Marschner, 1995, 2.^a ed., p.31, com permissão de Elsevier.)

zimas de transporte), 40% de lipídios e 5% de carboidratos (Tabela 2.6).

A permeabilidade da membrana aos solutos é inversamente proporcional ao diâmetro das moléculas sem carga e à velocidade na qual os solutos permeiam a membrana. As propriedades de ultrafiltro das membranas celulares representam uma barreira efetiva aos solutos de alto peso molecular. Assim, complexos de EDTA e os compostos sideróforos são de alto peso molecular e têm restrita mobilidade na membrana. É possível, portanto, usar compostos de alto peso molecular, como polietilenoglicol em altas concentrações externas, para provocar perda de água por osmose e induzir deficiência de água nas plantas.

A membrana celular é considerada uma das bioestruturas mais extraordinárias do planeta. Com uma espessura média de 7 nm (nanômetros) representa uma formidável barreira entre a célula viva e o ambiente. A membrana identifica os elementos que são necessários e os que não o são, nas proporções certas, e a complexidade do seu funcionamento se deve à interação entre os inúmeros e diferentes polipeptídios e lipídios. Existe aproximadamente um milhão de diferentes proteínas transportadoras na membrana celular. Isso representa um investimento de 12% do total da codificação do genoma na célula

para a formação dessas proteínas. Como as plantas necessitam de 14 ou 16 elementos minerais essenciais (dependendo da espécie), fica evidente a extraordinária capacidade de regulação do transporte na membrana, o que confere à planta uma grande flexibilidade para adaptação às condições do ambiente. A compreensão do transporte iônico na célula da raiz é ainda superficial.

MECANISMOS PASSIVOS E ATIVOS DE TRANSPORTE DE SOLUTOS NA MEMBRANA PLASMÁTICA E TONOPLASTO

O transporte ativo na membrana plasmática requer energia na forma de ATP. A primeira evidência consistente de envolvimento do ATP no transporte iônico mediado por carregadores foi verificada nos estudos de absorção de K^+ por raízes de plantas de várias espécies (cevada, aveia, trigo e milho), quando se observou uma elevada correlação entre a absorção de K^+ e a atividade da ATPase. Além disso, observou-se também que as Mg-ATPases da membrana plasmática eram fortemente estimuladas pelo K^+ , de tal forma que esses íons, quando adicionados à solução externa, desencadeavam o seu próprio mecanismo energético de transporte através da membrana plasmática.

TABELA 2.6 Composição em lipídios e ácidos graxos da membrana plasmática e do tonoplasto de feijão mungo		
Lipídios	Membrana Plasmática	Tonoplasto
	$\mu\text{mol mg}^{-1}\text{proteína}$	
Fosfolipídios	1,29	1,93
Esteróis	1,15	1,05
Glicolipídios	0,20	0,80
	$\%$ do total	
Ácidos graxos dos fosfolipídios		
Palmítico	35	39
Esteárico	6	6
Oléico	9	9
Linoléico	21	22
Linolênico	19	20
Outros	10	4

Fonte: Mengel e Kirkby, 1987; Yoshida e Uemura (1986) em Marschner (1995).

A energia requerida pela absorção iônica nas raízes é considerável, principalmente durante o crescimento vegetativo. Estudos realizados em *Carex diandra* e em plantas de milho indicaram que a absorção iônica exigia cerca de 36% do total do custo energético respiratório, expresso como consumo de ATP. Com o crescimento da planta essa proporção tende a diminuir em favor dos processos de crescimento e manutenção da fitomassa. Há, todavia, evidências de que esse valor seria algo mais reduzido, pois inclui os gastos energéticos com o transporte radial na raiz e com o carregamento no xilema. Além disso, não considera a energia suprida às raízes pela parte aérea, via oxidação não-fosforilativa de carboidratos.

O gradiente de potencial eletroquímico

O transporte de solutos através de membranas não é necessariamente um processo ativo que requer sempre gasto de energia pela célula. O movimento espontâneo de um soluto de qualquer substância ocorre ao longo de um gradiente de concentração, ou seja, de um local de maior concentração para outro de menor concentração. As substâncias neutras obedecem a esse princípio da termodinâmica, movimentando-se ao longo de um gradiente de *potencial químico*. Assim, um mecanismo passivo ocorre por difusão, quando o soluto (substância neutra) está mais concentrado de um dos lados da membrana, e se difunde de uma solução mais concentrada para outra de menor concentração ou potencial químico. Esse processo ocorre, portanto, a favor de um gradiente de potencial químico, com a ajuda de carregadores ou através de poros na membrana. Nas células, esse transporte passivo pode ocorrer com os íons na membrana plasmática, quando a atividade iônica no citoplasma é diminuída rapidamente, devido à adsorção a grupos como $R-COO^-$ ou $R-NH_3^+$, ou devido à incorporação do íon em estruturas orgânicas (por exemplo, fosfato em ácidos nucléicos), sendo tal fato comum em tecidos meristemáticos das pontas das raízes.

Em contraste, o transporte na membrana contra um gradiente de potencial de energia tem que estar ligado, direta ou indiretamente, a um mecanismo que consome energia, que *bombeia* o íon para dentro da

célula. Para determinar se um íon está sendo absorvido passiva ou ativamente, é preciso conhecer as atividades ou concentrações desse íon dentro e fora da célula, bem como o potencial elétrico da membrana.

Porém, os íons em solução possuem carga e são atraídos por um *potencial elétrico*. Os cátions são atraídos por um eletropotencial negativo e os ânions por um eletropotencial positivo. Portanto, o movimento dos íons está sujeito a duas forças: uma representada pelo gradiente de potencial químico e a outra pelo gradiente de potencial elétrico, os quais, em conjunto, são denominados de *gradiente de potencial eletroquímico*. Por meio de microeletrodos colocados no interior de vacúolos, descobriu-se que existe uma diferença de potencial elétrico entre o interior das células da epiderme radicular e a solução externa, fortemente negativo dentro da célula. As primeiras medidas desse tipo foram feitas em células gigantes da alga doce *Chara*, onde foram determinados potenciais elétricos da ordem de -100 a -200 mV. A existência de um forte potencial elétrico negativo no interior do vacúolo das células de plantas superiores tem igualmente sido verificado. Essa medida de potencial se refere ao diferencial de potencial elétrico (ΔE) entre o interior e o exterior da célula, chamado de potencial das membranas. Em células da epiderme radicular de plantas superiores, a diferença de potencial (ΔE) entre o vacúolo e o meio externo geralmente varia entre -80 e -120 mV. Então, teoricamente, teríamos como regra que os cátions entrariam na célula passivamente, a favor de um gradiente de potencial eletroquímico, e somente a entrada de ânions necessitaria de energia num processo ativo de absorção, pois os ânions teriam que entrar contra um gradiente de potencial eletroquímico. Entretanto, na prática nem sempre acontece assim. Existem evidências experimentais de que os cátions nutrientes também exigem energia para um transporte ativo, principalmente quando ocorrem em baixa concentração no meio externo. A concentração externa abaixo da qual a planta utiliza energia para um transporte catiônico ativo é variável e depende da espécie.

As bombas de prótons, os carregadores e os canais de íons nas membranas

Nos últimos anos, tem-se observado um avanço significativo na compreensão dos mecanismos que as células possuem para manter os potenciais elétricos negativos nas membranas, bem como a importância desses potenciais para o crescimento e funcionamento das células vegetais. Tal progresso foi alcançado graças às novas técnicas para o isolamento de membranas e determinação de potenciais e de fluxos de íons em membranas isoladas.

Alguns dos princípios de transporte de íons através da membrana plasmática e tonoplasto já estão bem estabelecidos na literatura. Existem bombas de prótons movidas a ATP (também denominadas de força motiva de prótons) nas duas membranas, sendo a função delas controlar o pH do citoplasma. As bombas de prótons transportam H^+ tanto para fora do vacúolo quanto do citoplasma, criando um gradiente de pH e de potencial elétrico entre o meio externo e o interior da célula. Sabe-se que, em geral, o pH do citoplasma é estável entre 7,3 e 7,6, o pH do vacúolo varia entre 4,5 e 5,9 e o do apoplasto fica em torno de 5,5. Esse é o mecanismo principal que utiliza energia e que supre força motiva para o processo secundário que é a absorção de cátions e ânions através das membranas ao longo de um gradiente de po-

tencial eletroquímico, mediado por carregadores específicos ou por canais de íons. Esse complexo modelo de mecanismos regulatórios na membrana plasmática, representado na Fig. 2.6, leva também em consideração a presença de proteínas de recepção de sinais internos e externos e de transformação desses sinais em processos de transporte iônico. Os cátions seriam transportados na membrana plasmática para dentro do citoplasma, a favor de um gradiente de potencial eletroquímico (*uniport*), mediados por carregadores ou permeases existentes na membrana. Nesse modelo ainda, os ânions seriam transportados através da membrana plasmática num processo denominado de co-transporte próton-ânion (*symport*), em que os prótons que foram bombeados para fora (pelas ATPases) servem de força motriz para a entrada dos ânions, mediada por uma proteína transportadora específica. Existem fortes e inúmeras evidências desse processo de co-transporte ou *symport* na membrana plasmática de células de raízes, para os ânions cloreto, fosfato, nitrato e sulfato.

Os canais de íons são proteínas com estrutura especial, cuja existência na membrana plasmática e no tonoplasto foi recentemente estabelecida. Esses canais são únicos, entre as proteínas de transporte com habilidade de regular ou abrir caminho para o fluxo de íons. Os íons ficam sujeitos ao ambiente físico-

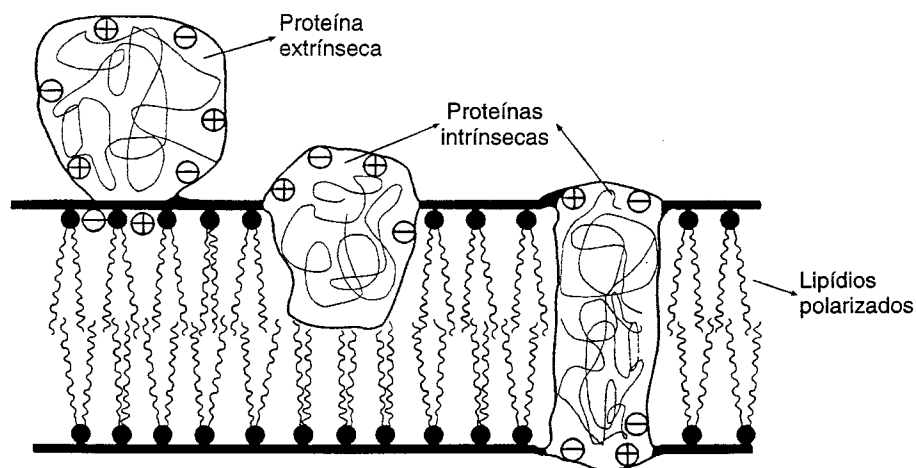


Fig. 2.5 Modelo esquemático de uma biomembrana com lipídios polarizados e proteínas integradas intrínsecas e extrínsecas. As proteínas intrínsecas podem atravessar a membrana e formar os canais de proteína. (Reproduzido de Marschner, 1995, 2.^a ed., p.13, com permissão de Elsevier.)

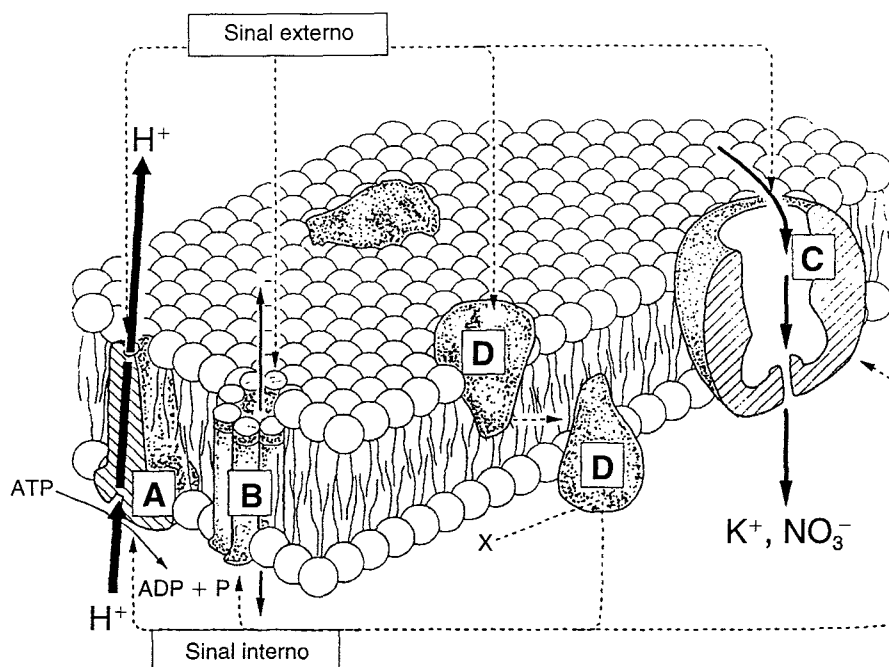


Fig. 2.6 Mecanismos principais de transporte iônico na membrana plasmática: (A) bomba de prótons (ATPase); (B) canal de íons; (C) carregador; (D) proteínas acopladoras específicas para sinais de recepção e transdução. (Reproduzido de Hedrich *et al.*, 1986, em Marschner, 1995, 2.^a ed., p.22, com permissão de Elsevier.)

químico desses canais, sendo transportados de modo rápido e passivamente através das membranas num processo unidirecional (*uniport*). Os canais abertos catalisam um fluxo de 10^6 a 10^8 íons por segundo, o que é, pelo menos, cerca de três a cinco vezes mais rápido do que o transporte de íons mediado por carregadores. Entretanto, os canais de íons ficam fechados a maior parte do tempo, e o seu número por célula parece ser bastante reduzido. Na membrana plasmática de células das folhas, presume-se que existam cerca de 200 canais de K^+ por célula. Até agora, foram identificados canais específicos para o K^+ , Ca^{2+} , H^+ e Cl^- na membrana plasmática de células da folha, e supõe-se que exista um canal específico para o NO_3^- no tonoplasto. Existem algumas sugestões para as funções dos canais de íons nas células das folhas como sendo importantes para a regulação osmótica, principalmente nas células-guardas dos estômatos, e para os movimentos seismonásticos e nictinásticos das folhas, para os quais há necessidade de um transporte rápido de solutos de baixa massa molecular (como o K^+ e o Cl^-) entre compartimentos de células, em resposta aos sinais do ambiente.

Os canais seletivos de Ca^{2+} na membrana plasmática e tonoplasto são considerados de extrema importância na regulação da concentração de Ca^{2+} livre no citosol, o que é fundamental para a função do Ca como mensageiro secundário no citoplasma, na transmissão de sinais por meio da modulação das atividades enzimáticas. Nas raízes, as funções dos canais de íons na absorção iônica não estão muito claras. Existem canais nas membranas das raízes que, quando abertos, facilitam o fluxo de cátions bivalentes (Ca^{2+} e outros). Para o K^+ parece existir um canal que se abre mediante hiperpolarização da membrana e que facilita o influxo de K^+ em presença de altas concentrações externas do cátion. Esse canal somente se abre em presença de concentrações elevadas de K, superiores a 1 mmol L^{-1} . Portanto, os canais de cátions na membrana plasmática das células das raízes provavelmente desempenham importante papel na absorção dos cátions bivalentes, mesmo em baixas concentrações externas, e dos cátions monovalentes, principalmente K^+ , em altas concentrações externas.

É importante considerar que, embora em pequeno número por célula, os canais nas membranas são

de pequena dimensão e permitem um fluxo rápido e passivo de solutos de baixa massa molecular, porém restringem fortemente a entrada de macromoléculas, como as proteínas. A absorção de macromoléculas em plantas pode ocorrer excepcionalmente por meio de mecanismos especiais, do tipo endocitose ou pinocitose, devido às propriedades dinâmicas das estruturas das membranas das células, porém a importância dessa capacidade de absorção não deve ser superestimada, uma vez que os pequenos poros das paredes celulares das células (tanto das folhas quanto das raízes) restringem fortemente a permeabilidade às macromoléculas.

Absorção de nutrientes minerais pelas folhas

Em plantas terrestres, a absorção de solutos pela superfície das folhas é restrita devido à presença, nas paredes externas das células da epiderme, da cutícula e da camada de ceras. Essas ceras excretadas pelas células da epiderme consistem em álcoois de cadeia longa, cetonas e ésteres de ácidos graxos de cadeia longa. Abaixo da cutícula existe uma camada cutinizada, mais espessa, que consiste em um esqueleto de celulose incrustado com cutina, cera e pectina. Essas duas camadas têm diversas funções, sendo a principal reduzir a perda de água e nutrientes pela transpiração excessiva. Os poros existentes na cutícula são da ordem de 1 nm de diâmetro e são permeáveis a íons e substâncias solúveis como a uréia (diâmetro = 0,44 nm), mas impermeáveis a complexos de ferro, como, por exemplo, o Fe-EDTA. Por outro lado, os cátions podem ficar retidos na cutícula foliar pelas cargas negativas ($-OH$ e $-COOH$) das pectinas, cutinas e ceras, o que varia com a espécie de planta e com o cátion. A epiderme superior da folha, logo abaixo da cutícula, pode apresentar estruturas que favorecem a entrada de íons: os *tricomas* (pêlos) que aumentam a propriedade de molhamento da folha; e os *ectodesmas* (protuberâncias do citoplasma), que se projetam na cutícula, reduzindo o percurso do íon da superfície externa até a membrana celular. Os estômatos, presentes na superfície foliar em número

variável com a espécie, podem ser importante via de acesso para os íons. Em *Allium porrum*, verificou-se que a absorção de ânions e cátions pelas folhas depende da abertura e densidade de estômatos e do número de estômatos penetrados (variável com o número de ciclos de molhamento/secamento). Outro fator que afeta a absorção foliar de íons é a idade das folhas. Folhas novas e recém-maduras têm maior habilidade de absorver íons, pois apresentam maior atividade metabólica, cutículas mais finas, maior velocidade de absorção e maior demanda por nutrientes.

As células das folhas, da mesma forma que as das raízes, absorvem os elementos minerais do apoplasto, e estes têm que atravessar a membrana plasmática, dotada de propriedades de ultrafiltro, com a diferença de que a absorção foliar é muito mais lenta que a radicular, visto que os pequenos poros da folha (existentes nas camadas da cutícula e de ceras) e os estômatos permitem uma entrada restrita de nutrientes. A velocidade de absorção de nutrientes pelas folhas depende também do estado nutricional da planta. Plantas deficientes, por exemplo, em fósforo podem absorver duas vezes mais rapidamente esse nutriente pelas folhas do que as plantas normais bem supridas com fósforo o fariam pelas raízes.

Embora o fornecimento via foliar possa suprir nutrientes à planta, esse suprimento é temporário e tem vantagens e desvantagens. Vários problemas podem ocorrer: (a) baixas taxas de penetração, principalmente em folhas com cutículas espessas, como citros e café; (b) escorrimento de superfícies hidrofóbicas; (c) lavagem da folha pela chuva; (d) secagem muito rápida da solução pulverizada; (e) redistribuição limitada de cálcio e boro do local de aplicação e absorção para outras partes da planta, devido à baixa mobilidade desses nutrientes no floema; (f) quantidades limitadas de macronutrientes aproveitadas, geralmente 1% da aplicação, com exceção da uréia que a planta pode aproveitar até 10% de uma aplicação; (g) ocorrência de necrose ou queima de folhas pela aplicação de soluções concentradas, principalmente de uréia.

A vantagem dessa técnica se aplica aos casos de prevenção de deficiências de micronutrientes em

culturas anuais ou perenes. No caso de deficiência leve a moderada de boro em frutíferas, a pulverização foliar com boro é eficaz para aumentar o teor de B nos botões florais e garantir o pegamento dos frutos. As Brássicas, como o nabo e a couve-flor, são muito exigentes em boro, sendo comum a ocorrência de “coração-preto”, sintoma típico de falta de B nessas hortaliças, que pode ser prevenido com pulverizações foliares. A deficiência de Zn, Cu ou Mn, comum em pomares de plantas perenes como citros e café, deve ser prevenida pela adubação foliar com micronutrientes, prática essa importante, porém, de curta duração, devendo ser repetida anualmente.

MOBILIDADE DE ÍONS E SOLUTOS NO XILEMA E FLOEMA

Mobilidade no xilema

Os nutrientes absorvidos pelas raízes são transportados para a parte aérea das plantas através do xilema, e, entre os órgãos das plantas, através do floema, embora entre órgãos o transporte também possa ocorrer via xilema, em menor proporção. O transporte radial do nutriente até o xilema da raiz pode possuir dois componentes: um metabólico e outro não-metabólico. Através da via metabólica, o nutriente absorvido pela raiz é imediatamente incorporado a substâncias orgânicas (ácidos ou açúcares) e transportado e liberado no xilema na forma orgânica ou inorgânica, dependendo do nutriente e da espécie. É o caso do fósforo em raízes jovens de cevada que possui um mecanismo metabólico predominante de transporte radial de P até o xilema (P-orgânico), porém o mesmo é liberado no xilema na forma P-inorgânico. A maioria dos nutrientes é transportada para a parte aérea via xilema na forma iônica (inorgânica). O N pode estar presente no xilema nas formas de nitrato, amônio (em pequena quantidade), amida ou de outros aminoácidos, dependendo da espécie e da forma em que foi suprido à planta. Os demais nutrientes são encontrados na seiva bruta em grandes quantidades na forma iônica, porém traços de compostos orgânicos contendo

P e S podem ser encontrados. Os tipos e as quantidades de espécies iônicas de micronutrientes presentes no xilema (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, B, Mo e Cl) são afetados pela composição da seiva em ácidos orgânicos, pelo seu pH e potencial de oxirredução. Verificou-se que o Fe só pode ser transportado no xilema para a parte aérea, quando complexado com ácidos orgânicos. A concentração de ácidos orgânicos no xilema é influenciada pela relação cátion/ânion e pela forma de suprimento de N. Em espécies herbáceas, a concentração de açúcares na seiva do xilema é normalmente muito baixa ou próxima de zero. Em experimentos com plantas de tomate e soja, verificou-se que o Fe se ligava principalmente ao ácido cítrico, e o Cu a diversos aminoácidos, principalmente asparagina e histidina em soja, e histidina, asparagina e glutamina em tomate. Em ambas as espécies, verificou-se ainda que o Zn, Mn, Ca e Mg ligam-se aos ácidos cítrico e málico. Os fitormônios são constituintes normais da seiva do xilema, particularmente as citocininas, que são sintetizadas nas raízes. A presença de ácido abscísico (ABA) na seiva bruta tem atraído grande interesse como um possível sinal químico da raiz para a parte aérea sobre o estado de hidratação da raiz. Esses sinais hormonais derivados da raiz afetam o transporte de longa distância de nutrientes minerais, alterando o volume do fluxo no xilema, a taxa de transferência entre xilema-floema e a distribuição de nutrientes minerais dentro da parte aérea.

Mobilidade no floema

A redistribuição ou remobilização de nutrientes ocorre via floema, iniciando-se nos vacúolos de tecidos de reserva para as partes apicais em crescimento, juntamente com os assimilados. Quando é detectado pela planta o início da falta de um nutriente no ápice (demanda da parte aérea), é enviado um sinal, iniciando-se a redistribuição dele das folhas mais velhas para as mais novas com maior ou menor rapidez, dependendo da sua função e mobilidade. Essas características são importantes na identificação de sintomas de deficiência, de acordo com a parte da planta afetada.

Assim, os nutrientes conhecidos como móveis se deslocam facilmente, e os sintomas de deficiência aparecem nas folhas mais velhas. Quando o nutriente faz parte de estruturas celulares, como paredes e membranas, sua mobilidade é restrita e os sintomas de deficiência aparecem nas folhas mais novas.

Com base nessa localização dos sintomas de deficiências nas plantas, a classificação mais conhecida e aceita na última década, quanto à mobilidade no floema, dividiu os nutrientes em: (a) móveis – N, P, K, Mg e Cl; (b) pouco móveis – S, Cu, Fe, Mn, Zn e Mo; e (c) imóveis – Ca e B (Marschner, 1983). Depois de 1995, quando foi descoberto que o boro pode ter expressiva mobilidade no floema dependendo da espécie vegetal, embora na maioria das espécies tenha mobilidade restrita, e com base na composição da seiva do floema, determinada com auxílio de traçadores isotópicos (radioisótopos ou isótopos estáveis), Marschner (1995) propôs uma classificação geral dos nutrientes em: (a) de alta mobilidade – N, P, K, Mg, S e Cl; (b) de mobilidade intermediária – Fe, Zn, Cu, B e Mo; e (c) de baixa mobilidade – Ca e Mn. Porém, Welch (1999) classificou os nutrientes de acordo com a capacidade da espécie em remobilizá-los para a semente, garantindo a viabilidade desta e a sobrevivência da geração seguinte, em: (a) móveis – N, K, P, S, Mg e Cl; (b) de mobilidade variável – Fe, Zn, Cu, Mo, Ni e Co; e (c) de mobilidade condicional – Ca, B e Mn. Dessa forma, observa-se que todas as classificações propostas são imprecisas, visto que a mobilidade dos nutrientes varia com as espécies.

A capacidade de remobilização de locais de reserva da planta para os órgãos reprodutivos (via floema) vai determinar o vigor da semente e das plântulas. O grau de mobilidade no floema dos nutrientes classificados como *variáveis* ou *condicionais* varia entre

espécies e, mesmo, entre genótipos dentro da mesma espécie, com as condições do ambiente, podendo ser móveis em determinadas circunstâncias e aparentemente imóveis em outras. Potássio é o elemento presente em maior concentração no floema, seguido do fósforo, magnésio e enxofre. O S ocorre no floema tanto na forma reduzida (glutathiona, metionina, cisteína) quanto na forma de sulfato. A concentração de sulfato no floema pode ser tão alta quanto a de fosfato. Verificou-se que a distribuição de S está relacionada com o estado da nutrição nitrogenada da planta, sendo dependente da senescência da folha, que é induzida pela deficiência de N. Essa relação também é evidente para o Cu e o Zn. Entretanto, na maioria das plantas cultivadas, os sintomas de deficiência de S aparecem nas folhas mais novas, razão pela qual o enxofre também deveria ser considerado de mobilidade intermediária ou variável. A classificação apresentada na Tabela 2.7 aproxima-se mais da de Welch (1999), exceto para o S.

Tem sido sugerido que o B seria móvel no floema de quaisquer espécies que produzissem o sorbitol, manitol ou dulcitol, os quais efetivamente podem se complexar com o boro e cuja presença pode variar conforme a espécie considerada. Nesse sentido, os sintomas de deficiência e toxicidade de B se expressam diferentemente, havendo necessidade de cuidados no diagnóstico e na correção dos desequilíbrios. Não se conhece nenhum outro nutriente que tenha tal variação genética entre espécies quanto à mobilidade no floema. Do ponto de vista do melhoramento genético, as espécies que apresentam maior mobilidade do boro no floema são fontes de germoplasma no transporte e uso eficiente de B, e podem ser utilizadas para o melhoramento de outras espécies. Já existem estudos de isolamento do gene responsável pela característica de produção de sorbitol em taba-

Tabela 2.7		
Diferenças na mobilidade dos nutrientes no floema		
Alta Mobilidade	Mobilidade Variável	Mobilidade Condicional
N, K, P, Mg e Cl	S, Fe, Zn, Cu, Mo, Ni	Ca, B e Mn

co e produção de plantas transgênicas com maior capacidade de absorção e transporte de B.

SOBRE A AQUISIÇÃO E AS PRINCIPAIS FUNÇÕES DOS NUTRIENTES

Os nutrientes minerais são comumente conhecidos como macronutrientes e micronutrientes de acordo com a quantidade exigida pela planta: **macronutrientes** – N, P, K, Ca, Mg, S e P; e **micronutrientes** – B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo e Ni. De acordo com as suas propriedades físico-químicas, podem ser classificados em **metais** – (K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni) e **não-metais** – N, S, P, B e Cl, bem como também, conforme as formas de assimilação e as funções bioquímicas e fisiológicas, em **nutrientes estruturais** (N e S), **nutrientes esterificados** (P e B), **nutrientes iônicos** (K, Ca, Mg, Mn e Cl) e **nutrientes transferentes de elétrons** (Fe, Cu, Zn, Mo e Ni).

Nitrogênio

Como já visto, o N pode ser absorvido pelas plantas nas formas iônicas NO_3^- e NH_4^+ . A absorção de nitrato constitui-se em exceção quanto à indução dos sistemas de alta afinidade localizados na membrana plasmática das células das raízes, pois essa indução se dá pela presença de NO_3^- no meio externo, enquanto, para outros nutrientes, ela ocorre pela sua deficiência ou ausência no meio externo. Assim, quanto maior a concentração de NO_3^- no meio externo, maior será a indução dos sistemas de absorção de alta afinidade. A absorção de NH_4^+ também aumenta com concentrações crescentes do íon no meio externo. O N é móvel no xilema e no floema, podendo ser transportado na forma de nitrato ou de aminoácidos e amidas.

As funções do N na planta são: (a) **nitrato no equilíbrio de cargas** – quando, na forma de NO_3^- , é armazenado no vacúolo e tem importante função de equilíbrio de cargas e na absorção de cátions e ânions; (b) **elemento estrutural** – fazendo parte da estrutura de proteínas e outros compostos orgânicos constituintes da estrutura da célula; (c) **elemento regulatório**, na forma orgânica, de reações de síntese.

A assimilação do nitrogênio: Em sua maior parte, o amônio tem que ser incorporado em compostos orgânicos nas raízes, enquanto o nitrato é prontamente móvel no xilema e pode ser estocado nos vacúolos das raízes, parte aérea e outros órgãos de armazenagem. Porém, antes de ser assimilado, o nitrato deve ser reduzido à forma amoniacal. Os processos de assimilação do N estão descritos no Cap. 4, Metabolismo do Nitrogênio.

A demanda de N pelas plantas varia com a espécie e o teor com a parte da planta analisada. Porém, para um crescimento adequado, a concentração geralmente fica dentro da faixa de 20 a 50 g kg^{-1} de matéria seca da planta. Quando o suprimento de N não é adequado, o crescimento é retardado e o N é mobilizado das folhas mais velhas para as áreas de novo crescimento. O sintoma típico de deficiência de N é a senescência precoce das folhas velhas com clorose característica. Ocorrem também mudanças na morfologia da planta, redução na relação parte aérea/raízes, redução no comprimento, largura e espessura das folhas. O excesso de N é desfavorável, provocando crescimento excessivo da parte aérea em detrimento das raízes e favorecendo o acamamento no caso das gramíneas. Esse efeito é mais visível quando se aplica nitrato, o que provavelmente está relacionado com o balanço de fitormônios.

Fósforo

Como já visto, a forma iônica preferida pelas plantas é a monovalente (H_2PO_4^-). A falta do ânion H_2PO_4^- no meio externo induz o aumento da atividade do sistema de alta afinidade para o fósforo na membrana plasmática. Na falta de P no meio externo, a velocidade de absorção aumenta 2 a 4 vezes, dependendo da espécie de planta. O fosfato inorgânico (Pi) absorvido pelas raízes é rapidamente incorporado aos açúcares, formando ésteres de açúcar-fosfato, que são transportados radialmente nas células da raiz e liberados no xilema na forma de Pi novamente. O Pi transita facilmente no xilema e no floema. A assimilação do Pi nos compostos orgânicos das raízes, ao contrário do nitrato e do sulfato, não passa pela redução do fosfato, que permanece na sua forma oxidada máxima.

O fosfato tem várias funções na célula vegetal: (a) **elemento estrutural** dos ácidos nucleicos (RNA, DNA); (b) **elemento transferidor de energia** nas ligações energéticas do fosfato e pirofosfato com os açúcares, com o gliceraldeído e com as coenzimas AMP, ADP, ATP, UTP e GTP; (c) **elemento regulador** – o Pi (iônico) armazenado no vacúolo é liberado no citoplasma e atua como regulador de diversas vias sintéticas.

As ligações energéticas de ésteres de fosfato e pirofosfato representam a máquina que movimenta metabolicamente as células. Existem mais de 50 tipos de ésteres de fosfato formados a partir de açúcares de álcoois, dos quais 10 aparecem em altas concentrações nas células, como a glucose-6-P e P-gliceraldeído, e com as coenzimas AMP, ADP, ATP, UTP, GTP. Esses ésteres de fosfato atuam nas sínteses e degradações, fornecendo energia para a célula.

Como elemento regulador, o Pi tem importante função na partição do C entre os cloroplastos e o citosol. Em cloroplastos isolados, um aumento na concentração de Pi no citosol estimula a fotossíntese, mas inibe drasticamente a incorporação do C fixado em amido. Assim, plantas deficientes apresentam redução na parte aérea mais acentuada do que a redução na fotossíntese, devido ao acúmulo de amido e açúcares nas folhas. Em plantas bem nutridas, 85 a 95% do Pi total encontram-se acumulados nos vacúolos, sendo liberados no citoplasma à medida que a planta necessita, evitando que a fotossíntese seja afetada em situações de falta de P externo.

A demanda de P pelas plantas para um crescimento ótimo está na faixa de concentração de 2 a 5 g kg⁻¹ de matéria seca. Por ser um nutriente móvel na planta, os sintomas de deficiência surgem nas folhas velhas. Sintomas visuais de deficiência consistem em: redução na expansão, na área e no número de folhas; coloração verde mais escura, porque a expansão da folha fica mais retardada do que a formação da clorofila e do cloroplasto; drástica redução na relação parte aérea/raízes e senescência precoce das folhas; retardamento na formação dos órgãos reprodutivos e no início da floração, diminuição no número de flores e de sementes.

Sintomas de toxicidade de P são raros, mas plantas sensíveis podem apresentá-los nas folhas com te-

ores iguais ou superiores a 3 mg kg⁻¹, tendo sido descritos, em sorgo e em outras plantas, como pintas vermelho-escuras nas folhas mais velhas.

Potássio

O K⁺ é um íon monovalente de pequeno raio iônico, cuja absorção é altamente seletiva e acoplada aos processos metabólicos, apresentando elevada mobilidade dentro da planta em todos os níveis: no interior das células, entre células individuais, entre tecidos e no transporte de longa distância via xilema e floema. O K⁺ não é assimilado em compostos orgânicos, isto é, não é metabolizado. Forma ligações fracas, facilmente trocáveis. No citoplasma, não compete pelos pontos de ligação que requerem cátions bivalentes. O K⁺ é o cátion mais abundante no citoplasma e, com os ânions acompanhadores, tem importantes funções nas células e tecidos das plantas, atuando: (a) na regulação osmótica; (b) no balanço de cátions/ânions; (c) nas relações hídricas na planta; (d) no movimento dos estômatos; (e) no alongamento celular; (f) na estabilização do pH do citoplasma, neutralizando ânions orgânicos e inorgânicos; (g) na ativação enzimática para um grande número de enzimas; (h) na síntese de proteínas; (i) na fotossíntese; (j) no transporte de açúcares no floema; e (k) nos movimentos seismonásticos das plantas.

De maneira geral para todas as plantas, as concentrações de K⁺ no citosol e nos cloroplastos são mantidas entre 100 e 200 mmol L⁻¹. Suas funções no citosol e nos cloroplastos não podem ser desempenhadas por outro nutriente, isto é, o K⁺ não pode ser substituído por nenhum cátion monovalente, como o Na⁺, por exemplo. Nos vacúolos, sua concentração pode variar entre 10 e 200 mmol L⁻¹, e, nas células-guardas dos estômatos, pode chegar até 500 mmol L⁻¹. As funções do K⁺ no alongamento celular e outros processos dirigidos pela turgescência dependem do seu armazenamento nos vacúolos. Sua função osmótica nos vacúolos pode ser substituída, em parte, por outros cátions, como o Na⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺, ou por solutos orgânicos, como os açúcares. Por outro lado, as concentrações de K⁺ no apoplasto são normalmente baixas, com exceção do apoplasto de células especi-

alizadas como dos estômatos, em que pode atingir concentrações de até 100 mmol L^{-1} , devido aos movimentos de entrada e saída dos estômatos. Nas células especializadas, bem como nos tilacóides dos cloroplastos, o movimento do K^+ precisa ser muito rápido, e, para isso, as membranas dispõem de canais que se abrem e fecham em diferentes seqüências, permitindo uma taxa de transporte de íons três vezes mais rápida do que aquela catalisada por bombas de prótons e carregadores.

A deficiência de potássio resulta em: (a) redução na atividade de muitas enzimas regulatórias; (b) diminuição na concentração de amido; (c) acúmulo de carboidratos solúveis; (d) acúmulo de compostos nitrogenados solúveis; (e) redução na atividade das ATPases ligadas na membrana plasmática, afetando o transporte iônico; (f) redução na atividade da redutase do nitrato; (g) redução na síntese da redutase do nitrato.

Muitas plantas, particularmente da família das leguminosas, apresentam folhas que se movimentam em direção a sinais de luz ou em resposta a estímulos mecânicos. Esses movimentos, chamados de fotonásticos e seismonásticos, são explicados por mudanças reversíveis muito rápidas na turgescência das células em tecidos especializados, que causam enrugamento ou inchamento das células na região do movimento, semelhante ao que ocorre no movimento de abertura e fechamento dos estômatos (íons envolvidos: K^+ , Cl^- e malato).

A demanda de K^+ para um crescimento ótimo está dentro da faixa de concentração de 20 a 50 g kg^{-1} de matéria seca. Plantas deficientes em K^+ têm seu crescimento retardado, e a redistribuição de K^+ é estimulada das folhas velhas e colmos para as folhas novas. Sintomas visuais de deficiência grave caracterizam-se por clorose e necrose das folhas e colmos mais velhos. A lignificação dos tubos vasculares fica prejudicada, o que contribui para o acamamento de plantas. Quando a água é limitante, a perda de turgescência e a murcha das folhas são sintomas típicos da deficiência de K. Plantas bem supridas de K são mais resistentes ao estresse de água, à geada e ao ataque de fungos.

A concentração crítica para o excesso de K depende do íon acompanhante e da planta, sendo bastante

variável entre espécies e variedades. É fato conhecido que, em quantidades equivalentes de K, o KCl desenvolve maior potencial osmótico do que o K_2SO_4 , sendo o primeiro mais tóxico às plantas pelo seu efeito salino. O KCl, quando se acumula nas folhas mais velhas, pode causar desidratação nas células vizinhas e rompimento de membranas nas células em que está contido, pelo movimento da água por osmose, resultando em pintas necróticas nessas folhas.

Cálcio

O cálcio é absorvido pelas plantas na forma de cátion bivalente (Ca^{2+}), sendo maior que o Mg, porém com menor raio de hidratação, o que lhe confere vantagem na absorção e na demanda seletiva pela planta. Essa absorção ocorre passivamente através dos canais de íons localizados na membrana plasmática das raízes.

O Ca^{2+} tem diversas funções na planta: (a) *como elemento estrutural* – o Ca^{2+} se localiza em alta concentração na lamela média das paredes celulares (no apoplasto) e na parte externa da membrana plasmática, fortalecendo-as na forma de pectatos de Ca, garantindo a estabilidade das paredes e das membranas; (b) *como elemento regulatório* – equilibra a relação cátions/ânions e atua na regulação osmótica; acumula-se no vacúolo e no retículo endoplasmático (ER), acompanhado de ânions orgânicos (malato etc.) e inorgânicos (como o nitrato e cloreto), com função regulatória; acumula-se também nos cloroplastos, em que está ligado às membranas tilacóides; (c) *com função na divisão e extensão celular e nos processos secretórios* – o cálcio, além de ter função na divisão celular, é necessário também para a expansão celular, processo importante para o crescimento da raiz e dos tubos polínicos; (d) *como segundo mensageiro no citoplasma* – quando sinais externos acontecem, de estresse ambiental, infecção por patógeno ou injúria mecânica, os canais iônicos de Ca^{2+} são ativados, aumentando a concentração de Ca^{2+} no citoplasma. O Ca^{2+} estimula diversas enzimas e proteínas, entre elas as calmodulinas (moduladas pelo Ca^{2+}) e as quinases dependentes de Ca^{2+} , acionando os processos de defesa da planta.

Nas dicotiledôneas como a beterraba, com alta capacidade de troca de cátions nas raízes, até 50% do Ca^{2+} podem ficar retidos nas paredes celulares na forma de pectatos, principalmente se a concentração externa de Ca^{2+} for baixa. Em tecidos de frutos de maçã, a proporção de Ca^{2+} nas paredes celulares pode chegar a 90% do total. Com o aumento do suprimento de Ca^{2+} , a proporção de oxalato de Ca^{2+} aumenta. Nas paredes celulares de folhas, a forma predominante é a de oxalato de Ca^{2+} . As ligações de pectato na lamela média das paredes celulares (apoplasto) das raízes são essenciais para o fortalecimento dos tecidos. O Ca^{2+} tem papel fundamental também na estabilidade da membrana plasmática e, portanto, na integridade da célula. Essa estabilização ocorre pela ligação do Ca^{2+} , formando pontes entre o fosfato e os grupos carboxílicos dos fosfolipídios da membrana e as proteínas, principalmente na superfície da membrana plasmática.

O Ca^{2+} é armazenado no vacúolo, nos cloroplastos e no retículo endoplasmático, porém, nos vacúolos, aparece em concentrações da ordem de 10^5 vezes maiores que no citosol, acompanhado de ânions orgânicos (malato e outros) e inorgânicos (nitrato, cloreto e outros). No citosol, a concentração de Ca^{2+} é extremamente baixa, sendo mantida entre 0,1 e 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o que é essencial para a célula por várias razões: (a) prevenir a precipitação de fosfato (Pi); (b) evitar competição com o Mg^{2+} pelos pontos de ligação; (c) pré-requisito para o funcionamento do Ca^{2+} como segundo mensageiro. Essa compartimentalização do Ca^{2+} confere a ele importante função regulatória, inclusive no balanço de ânions e cátions e na regulação osmótica da célula.

A demanda de Ca^{2+} pelas plantas para um crescimento ótimo está dentro da faixa de concentração de 10 a 50 g kg^{-1} de matéria seca, dependendo da espécie e da parte da planta. As monocotiledôneas necessitam, em geral, de menores quantidades de cálcio em comparação com as dicotiledôneas, devido ao menor número de pontos de ligação na parede celular, ou melhor, à menor capacidade de troca de cátions das raízes (Tabela 2.4). Por exemplo, plantas de tomate necessitam de uma concentração externa de Ca^{2+} cerca de 40 vezes maior do que as de centeio. Sintomas típicos de deficiência de cálcio são os vazamen-

tos na membrana e a desintegração das paredes celulares, resultando no colapso do tecido afetado (raízes, pecíolo e/ou a parte superior dos colmos ou hastes). A substituição do Ca^{2+} por outros cátions (K^+ , Na^{2-} ou H^+), nesses pontos da membrana das raízes, é a principal causa do estresse salino ou da toxicidade pelo alumínio.

Nos frutos, porém, órgãos de pouca transpiração, uma baixa concentração de Ca^{2+} é necessária para garantir rápida expansão celular e permeabilidade de membranas, pois o cálcio confere rigidez a essas estruturas. A planta mantém baixo o teor de Ca^{2+} nos frutos pela diluição resultante do crescimento e pela precipitação de Ca no floema na forma de oxalato. Porém, quando os frutos crescem rapidamente, essa diluição pode atingir valores abaixo do nível crítico necessário para a integridade das paredes e membranas celulares, que se rompem desarranjando os tecidos. Então, surgem sintomas de deficiência de Ca^{2+} nos frutos, como é o caso das desordens comuns denominadas de “fundo preto” relatado para tomate, melão, maçã e pimentão, da queima das bordas em alface (*tip burn*) e do “miolo-preto” em salsão. Quando em excesso, o Ca é estocado no vacúolo das células e, pela sua baixa mobilidade, não há descrição de sintomas de seu excesso nas plantas.

Magnésio

O magnésio é absorvido pelas plantas na forma de íon bivalente. Por ser o Mg^{2+} um pequeno íon, porém com grande raio de hidratação, sua absorção pode ser fortemente reduzida pelo K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} e Mn^{2-} e pelos H^+ em baixo pH. A deficiência de Mg^{2+} induzida pelos outros cátions competitivos é um fenômeno comum. Quanto à sua mobilidade, o Mg^{2+} é bastante móvel no xilema e no floema, e o transporte e redistribuição se dá na forma iônica.

Suas funções na planta são diversas: (a) como *elemento estrutural*, é o centro da molécula da clorofila, e forma pectatos ajudando na estabilidade das membranas e paredes das células; (b) como *elemento-ponte*, atua na estabilidade da conformação de proteínas e enzimas; essa função do Mg^{2+} está relacionada com sua capacidade de interagir fortemente com grupos de

moléculas complexas, formando uma ponte iônica, estabelecendo uma geometria precisa entre as moléculas, como, por exemplo, entre uma enzima e o seu substrato; (c) como *elemento ativador*, atua na ativação enzimática, em reações de fosforilação e na fotossíntese de uma longa lista de enzimas. A principal função do Mg é, certamente, estrutural, como centro da molécula de clorofila.

A proporção de Mg ligado à clorofila depende da espécie, do suprimento do nutriente e da intensidade da luz, podendo chegar até 50% do Mg total das folhas, em plantas deficientes sob baixa luminosidade. Normalmente, até 25% do Mg total das folhas estão ligados à clorofila; 5 a 10% a pectatos da parede celular ou precipitados como sais solúveis no vacúolo das células; e cerca de 60–90% ficam na forma iônica (solúvel em água).

Na forma iônica, o Mg^{2+} atua como ativador de inúmeras enzimas e de reações enzimáticas, como, por exemplo, das enzimas glutatona-sintase, PEP-carboxilase, fosfatases e ATPases. Por outro lado, a reação de síntese de ATP requer Mg^{2+} como elemento-ponte entre ADP e a enzima ATPase. O mesmo ocorre com a RuBP-carboxilase no estroma dos cloroplastos, cuja atividade é altamente dependente do Mg^{2+} e do pH. Outra enzima-chave dependente do Mg^{2+} é a frutose-1,6-bisfosfatase, que, no cloroplasto, regula a partição de assimilados entre a síntese de amido e a exportação de triose-fosfatos para o citoplasma. De modo semelhante, a ativação da glutamina-sintetase depende do Mg^{2+} , que regula a assimilação da amônia nos cloroplastos.

Em folhas deficientes em Mg^{2+} : (a) a proporção de N-protéico diminui, aumentando as frações de N-orgânico solúveis (aminoácidos livres), devido à sua função na síntese de proteínas; (b) a taxa de fotossíntese diminui e os carboidratos se acumulam, pois o seu transporte para os órgãos de reserva fica prejudicado; (c) diminui a formação de fitatos (substância de reserva de P dos grãos de cereais), aumentando a concentração de Pi livre nos grãos, que, por sua vez, tem um efeito regulatório diminuindo a formação de amido nos órgãos de reserva.

A demanda de Mg^{2+} pelas plantas para um ótimo crescimento está na faixa de concentração de 15 a 35

g kg^{-1} de matéria seca. Por ser um nutriente móvel na planta, os sintomas de deficiência surgem nas folhas velhas e se caracterizam por clorose e necrose.

Sintomas leves e temporários de deficiência de Mg^{2+} nas folhas não significam queda na produção de grãos, a menos que a deficiência se agrave. Folhas deficientes em Mg^{2+} são sensíveis à luz, e os sintomas de clorose e necrose se acentuam quando estão expostas a alta intensidade luminosa. Nos casos de deficiência aguda, pode haver redução na produção (por exemplo, no número de grãos por espiga dos cereais). Quando em excesso, o Mg^{2+} é estocado no vacúolo das células e atua como regulador na compensação de cargas no citoplasma e no potencial osmótico do vacúolo.

Enxofre

O S é absorvido pelas raízes na forma de sulfato, podendo ser absorvido pelas folhas na forma de SO_2 da atmosfera, sendo a primeira a fonte mais importante de enxofre. A falta de sulfato no meio ativa o sistema de alta afinidade para o SO_4^{2-} na membrana plasmática da raiz, podendo resultar em aumentos de até 500 vezes na absorção de SO_4^{2-} , dependendo da espécie de planta. Quanto à mobilidade no floema, diferente do N, o S é mais móvel e uniformemente distribuído nas folhas velhas e novas.

As plantas superiores apresentam alguns aspectos comuns entre a assimilação de sulfato e a de nitrato: (a) necessidade de redução – do sulfato para SH^- – para incorporação de S nos aminoácidos, proteínas e coenzimas; e (b) o mesmo poder redutor, que é a ferredoxina nas folhas verdes. Entretanto, diferente do nitrato, o sulfato pode ser incorporado sem ser reduzido em estruturas orgânicas, como os sulfolipídios de membranas, e o S reduzido pode ser reoxidado, ou seja, o enxofre da cisteína pode ser transformado em sulfato novamente, tendo essa reoxidação importante função no controle alostérico da redução do sulfato. O primeiro passo da assimilação de enxofre consiste na substituição de dois grupos fosfatos do ATP por um grupo sulfúrico, formando *adenosina-fosfossulfato* (APS), reação catalisada pela ATP-sulfúrilase. Essa APS vai servir de substrato para a síntese de este-

res de sulfato ou para a redução de sulfato. Na redução, o enxofre é incorporado num grupo tiol (sulfidrilo, -SH). O primeiro composto orgânico a receber o grupo sulfidrilo (-SH) recém-formado é um composto que contém enxofre, a *acetil-serina*, que se divide formando dois compostos: acetato e *cisteína* (aminoácido). *Cisteína*, o primeiro composto estável da assimilação redutora do S, e a *metionina* são os precursores de todos os demais compostos contendo grupos sulfidrilo, principalmente da glutatona.

Em resumo, a assimilação do S depende da: (a) atividade da ATP-sulfurilase; (b) disponibilidade de sulfato onde existe a enzima, ou seja, nos cloroplastos; (c) atividade da APS-sulfotransferase; (d) disponibilidade de acetil-serina para a síntese de cisteína.

As funções do S estão relacionadas com: (a) o grupo funcional -SH (grupo sulfidrilo) em enzimas como a urease, as sulfotransferases e a coenzima-A, diretamente envolvido em reações metabólicas; (b) a glutatona como poderoso redutor, desempenhando papel fundamental na desintoxicação por radicais livres de superóxidos e de peróxido de hidrogênio; (c) a glutatona como precursor de fitoquelatinas, que funcionam na desintoxicação de metais pesados; (d) outras substâncias como poderosos redutores, contendo radicais -SH em seus grupos prostéticos: ferredoxina, biotina (vitamina H) e tiamina pirofosfato (vitamina B₁); (e) o componente estrutural - ésteres de sulfato de sulfolipídios, os quais são constituintes de todas as biomembranas, abundantes nas membranas tilacóides dos cloroplastos e importantes na regulação do transporte iônico nas membranas das raízes, estando relacionados com a tolerância à salinidade.

Cerca de 2% do S reduzido encontram-se na forma de grupos sulfidrilo (tiol), e mais de 90% na forma de glutatona, em plantas normais. Com a deficiência de enxofre, ocorre acúmulo de amido, devido ao desarranjo no metabolismo de carboidratos e à inibição da síntese de proteínas, havendo acúmulo de aminoácidos e outras formas solúveis de nitrogênio orgânico.

A demanda de S pelas plantas varia entre as espécies de 1,0 a 5,0 g kg⁻¹ de matéria seca. Entre as famílias, a ordem de exigência é a seguinte: gramíneas < leguminosas < crucíferas. Essa exigência se reflete

também no teor de S das sementes, que está entre (g kg⁻¹ de matéria seca): 1,8-1,9 nas gramíneas; 2,5 a 3,0 nas leguminosas; e 11 a 17 nas crucíferas. O mesmo ocorre com o conteúdo de S nas proteínas das espécies dessas famílias. Na média, as proteínas das leguminosas (relação N/S = 40) contêm menos S do que as dos cereais (N/S = 30).

Os sintomas visuais de deficiência de S consistem em redução no crescimento da parte aérea, levando a um decréscimo na relação parte aérea/raízes de quase duas vezes; redução no tamanho das folhas e clorose acentuada, devido ao menor teor de clorofila. Para a maioria das espécies, essa clorose ocorre mais comumente nas folhas novas. Porém, pode também ocorrer nas folhas velhas, uma vez que o S é mais uniformemente distribuído nas folhas velhas e novas, e essa distribuição pode também ser afetada pelo suprimento de nitrogênio: a deficiência de S pode aparecer nas folhas novas, quando há um bom suprimento de nitrogênio, ou nas folhas velhas, quando o suprimento de N é baixo. Isso indica que a remobilização e redistribuição de S das folhas velhas para as novas depende da taxa de senescência induzida pela deficiência de N, o que também ocorre para alguns micronutrientes como o cobre e o zinco.

Boro

O boro (B) é absorvido pelas plantas preferencialmente na forma molecular, sem carga (H₃BO₃). Possui propriedades intermediárias entre os metais e os não-metais eletronegativos e tem tendência a formar complexos catiônicos dentro da planta, com compostos orgânicos de configuração cis-diol, como os açúcares e seus derivados, ácido urônico e alguns odifenóis abundantes na parede celular.

As funções do B estão relacionadas com a formação e estabilização da parede celular, da interface da parede celular com a membrana plasmática e com a lignificação e diferenciação do xilema. As muitas funções do B podem ser classificadas em primárias e secundárias, de acordo com os efeitos causados pela sua deficiência. Assim, a deficiência de B causa os seguintes **efeitos primários**: (a) mudanças na composição química e ultra-estrutura da parede celular; (b)

mudança no metabolismo de fenóis (acumulação de certos fenólicos); (c) inibição da síntese de lignina e estímulo da atividade da oxidase de AIA; (d) diminuição do nível de AIA difusível; (e) os efeitos citados resultam em mudanças fisiológicas e morfológicas da interface entre a parede celular e a membrana plasmática, devido à inibição de enzimas na membrana plasmática e outros processos da absorção iônica (atividade da ATPase, potencial da membrana, fluxo de íons); e à inibição da elongação (crescimento e diferenciação do xilema).

Em conseqüência, a deficiência de B resulta nos seguintes *efeitos secundários*: (a) o acúmulo de fenólicos diminui o nível de IAA difusível e aumenta a produção de radicais livres de superóxidos; (b) aparecem sintomas induzidos de deficiência de Ca; (c) o aumento de radicais livres de superóxidos desarranja a membrana plasmática; (c) em conseqüência dos efeitos no xilema, ocorrem mudanças na distribuição de carboidratos; (d) em conseqüência de todos os demais efeitos, ocorrem alterações no metabolismo de fitormônios e de RNA/DNA.

Esse “efeito cascata” da deficiência de B resulta em sintomas que consistem num engrossamento das paredes celulares das células do ápice das raízes, com deformações provocadas por aumento de hemicelulose e pectina e deposição irregular de material de parede e de membrana, formando calos. Os sintomas de deficiência de B na parte aérea aparecem nas gemas terminais e folhas mais novas, como crescimento retardado ou necrose. Usualmente, os internódios ficam curtos, as folhas deformadas, e as hastes e pecíolos engrossados, podendo chegar a rachar como ocorre em salsão (*Apium graveolens* L.). Miolo-preto em hortaliças de cabeça, como em alface, couve-flor, repolho, são comuns com deficiência de boro, e miolo mole em raízes de salsão e em beterraba. Queda de gemas, botões florais e queda de frutos em desenvolvimento são muito comuns, principalmente em manga. Miolo-oco em grãos de soja, falhas na formação de grãos (chochamento de grãos) em trigo, falhas no pegamento de frutos ou má-formação de frutos, como ocorre em maçã e citros.

O B tem também uma função especial no crescimento do tubo polínico, o qual ocorre por deposição

de novo material de parede celular no ponto de crescimento, e não pela extensão da parede celular já existente. Em milho, o conteúdo mínimo de B na matéria seca dos estiletes deve ser de $3 \mu\text{g g}^{-1}$ para que haja germinação do pólen e fertilização, porém esse limite crítico varia muito entre espécies e genótipos. Em videira (*Vitis vinifera*), espécie conhecida pela sua alta exigência em boro, a concentração crítica chega a $50\text{--}60 \mu\text{g g}^{-1}$ de B na matéria seca dos estiletes, ficando a viabilidade do pólen comprometida em concentrações inferiores. A exigência de B para o processo reprodutivo (florescimento, frutificação ou produção de grãos) é bem maior do que para o crescimento vegetativo somente. Quanto aos teores nas folhas, também há grande variação entre espécies e cultivares quanto ao limite crítico de deficiência, ficando entre 5 e 10mg kg^{-1} para as monocotiledôneas, entre 20 e 70mg kg^{-1} para as dicotiledôneas e entre 80 e 100mg kg^{-1} para as espécies de *Papaver* e *Taraxacum*.

O limite crítico para a toxicidade de B varia acentuadamente entre espécies (na matéria seca de folhas): $< 100 \text{mg kg}^{-1}$ para a soja; 100mg kg^{-1} para o milho; 400mg kg^{-1} para o pepino, *Cucumis sativus* L.; 1.000mg kg^{-1} para a abobrinha, *Cucurbita pepo* L.; entre 100 e 270mg kg^{-1} para os cultivares de trigo.

Cloro

O cloro é facilmente absorvido pelas plantas na forma de Cl^- , e, sendo também bastante móvel e abundante na litosfera, ocorre em concentrações relativamente elevadas nos tecidos das plantas, comparadas às dos outros micronutrientes. Entretanto, a demanda para um crescimento normal geralmente é bem menor do que a ocorrência.

Embora existam muitos compostos orgânicos que contêm cloretos na natureza, o Cl exerce suas funções nas plantas principalmente como ânion cloreto (Cl^-), nos processos que envolvem regulação osmótica (como elongação celular, abertura de estômatos) e nos de compensação de cargas (como no transporte de cátions) em plantas superiores. O Cl^- é essencial para a fotólise da água no fotossistema II, atuando como co-fator da enzima que contém Mn na sua estrutura. A sua concentração é mantida constante no

citoplasma e nos cloroplastos, através de transporte ativo pelas membranas, sendo armazenado nos vacúolos quando em excesso.

O cloreto afeta também o crescimento da planta indiretamente pela regulação dos estômatos, por ser o principal contra-íon do K^+ . Essa compensação de carga com Cl^- , em vez de malato, é de particular importância em plantas com células-guardas ausentes ou pouco desenvolvidas, como ocorre com a cebola (*Allium cepa* L.) e a palmeira (*Cocos nucifera* L.). Nessas plantas, a inibição do crescimento pela deficiência de Cl^- é devida ao desarranjo na regulação do fechamento dos estômatos sob estresse de água. Comparada com outras espécies, a palmeira tem elevada exigência por cloreto.

A concentração crítica para a deficiência de cloreto nas plantas pode variar de 70 mg kg^{-1} na matéria seca de folhas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) até 1.000 mg kg^{-1} em kiwi (*Actinidia deliciosa*). Sintomas típicos de deficiência de Cl^- caracterizam-se por murchamento das folhas, enrolamento dos folíolos, bronzeamento e clorose similar à deficiência de Mn, e inibição acentuada do crescimento das raízes. A concentração crítica para a toxicidade está na faixa de 3.000 a 5.000 mg kg^{-1} de matéria seca de folhas para espécies sensíveis, e de 20 a 40 g kg^{-1} para espécies tolerantes.

Cobre

O cobre é absorvido pelas raízes na forma Cu^{2+} , sendo de mobilidade variável no floema, dependendo da espécie. É um elemento de transição similar ao ferro, com habilidade para formação de quelatos estáveis e facilidade para o transporte de elétrons (Cu^{2+}/Cu^+), sendo, portanto, bastante relevante nos processos fisiológicos de oxirredução.

Tem função estrutural em enzimas que podem reagir diretamente com o oxigênio molecular e catalisar preferencialmente processos terminais de oxidação. Várias proteínas contendo cobre são importantes nos processos da fotossíntese, da respiração, da desintoxicação dos radicais livres de superóxidos e da lignificação.

A deficiência de cobre resulta em: (a) redução no teor de plastocianina, prejudicando o transporte ele-

trônico na cadeia da fotossíntese; (b) redução dos lipídios e polipeptídios das membranas tilacóides, afetando a eficiência da plastoquinona na transferência de elétrons entre os fotossistemas I e II; (c) em consequência, redução na taxa fotossintética, na concentração de amido e de carboidratos solúveis, resultando em redução na produção de matéria seca; (d) no caso de deficiência grave de Cu, alteração na ultra-estrutura dos cloroplastos, devido à queda na atividade das dismutases de superóxido (SOD) – a Cu-Zn-SOD – envolvidas na desintoxicação dos radicais de superóxidos (O_2^-) gerados durante a fotossíntese; (e) redução na síntese de quinonas, substâncias derivadas da melanina, alcalóides e ligninas, devido à queda na atividade da fenolase e lacase, enzimas que contêm Cu, prejudicando a lignificação e acumulando fenóis; (f) o acúmulo de fenóis inibe também a enzima oxidase de AIA, acumulando ácido indolacético (AIA), o que retarda o florescimento e a senescência e inibe a produção de grãos e/ou frutos pela indução de macho-esterilidade; (g) redução de oxidases que contêm Cu, acumulando putrescina e espermidina e resultando em desarranjos no crescimento da planta; (h) redução do transporte eletrônico na mitocôndria, prejudicando a cadeia respiratória, devido à queda drástica na atividade de enzimas que aí atuam e contêm Cu (elemento estrutural da molécula de citocromo-oxidase e da de ascorbato-oxidase).

O limite crítico de deficiência de Cu está na faixa de concentração de 1 a 35 mg kg^{-1} , dependendo da espécie, da parte da planta, da idade da planta e de fatores ambientais como o suprimento de N e o estresse pela seca. Em geral, esse limite é menos afetado por fatores ambientais em folhas novas, sendo essa parte vegetativa a mais indicada para diagnose do estado nutricional de Cu. Para a maior parte das espécies cultivadas, a faixa para o limite de toxicidade está entre 15 e 30 mg kg^{-1} . Existem espécies tolerantes ao Cu com limites de toxicidade bem superiores, podendo chegar até 1.000 mg kg^{-1} .

Ferro

A planta absorve o Fe na forma reduzida (Fe^{2+}), e a eficiência nesse processo de aquisição varia entre

espécies e genótipos. Algumas plantas possuem maior capacidade de extrusão de prótons na rizosfera, baixando o pH e favorecendo a absorção de Fe^{2+} pelas raízes, e também maior habilidade de complexação do Fe absorvido com ácidos orgânicos, principalmente o ácido cítrico, formando citrato-Fe, comumente encontrado no xilema.

O Fe é descrito como um elemento de transição caracterizado pela mudança fácil no seu estado de oxidação ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) e pela sua habilidade em formar complexos octaédricos com vários ligantes. Dependendo do ligante, o potencial de oxirredução do Fe varia significativamente, o que confere a esse nutriente uma especial importância nos sistemas biológicos de oxirredução. Embora o Fe somente seja absorvido através da membrana plasmática na forma reduzida (Fe^{2+}), dentro da planta o seu principal estado de oxidação nos complexos é a forma oxidada [(Fe^{3+})].

Existem dois grupos principais de proteínas que contêm ferro na planta: as hemoproteínas e as proteínas com grupos Fe-S. As hemoproteínas incluem os citocromos que são caracterizados por um complexo hemo-Fe-porfirina como grupo prostético. Outras hemoproteínas são a citocromo-oxidase, catalase, peroxidase e a leg-hemoglobina (que ocorre nos nódulos das leguminosas). Portanto, o Fe está envolvido na biossíntese dos citocromos, das referidas coenzimas e da clorofila, que é derivada de uma protoporfirina. A cadeia de transporte de elétrons na fotossíntese que ocorre nas membranas tilacóides dos cloroplastos consiste em vários hemogrupos contendo Fe e de aglomerados de Fe-S.

Com a deficiência de ferro, portanto, ocorre: (a) um decréscimo nas concentrações de clorofila e de outros pigmentos receptores de luz como as xantofilas e os carotenos, bem como na atividade dos transportadores de elétrons (citocromos e Fe/S-proteínas) dos fotossistemas I e II, resultando numa rápida queda na fotossíntese; (b) queda na concentração de ferredoxina (proteína com grupos Fe-S), poderoso redutor envolvido na redução de NADP^+ , de nitrito e de sulfato, e na assimilação de amônia; (c) queda na síntese de lipoxigenase (hemoenzima) que catalisa a oxidação dos ácidos linoléico e linolênico em vários outros compostos (incluindo traumatina e ácido

jasmônico), envolvidos no crescimento, senescência e resistência às doenças; (d) redução na atividade da catalase e da peroxidase (hemoenzimas), com a catalase fazendo parte do sistema de desintoxicação e decompondo radicais de O_2 livres tóxicos (O_2^-), e a peroxidase catalisa reações de oxidação utilizando H_2O_2 associadas com a transição de Fe^{3+} para Fe^{4+} no anel porfirínico.

A concentração crítica de deficiência de Fe na matéria seca das folhas fica na faixa de 30 a 50 mg kg^{-1} , dependendo da espécie. Essa concentração pode ser bem mais alta em tecidos meristemáticos ou em expansão (na faixa de 200 mg kg^{-1} para Fe total). Na parte aérea, o primeiro sintoma visual de deficiência de Fe é a clorose das folhas novas, que pode ser reversível, a menos que a deficiência seja grave (com pontos pretos necróticos). Nas raízes pode haver mudanças morfológicas e fisiológicas, e, na rizosfera, mudanças químicas causadas pela extrusão radicular de prótons com subsequente abaixamento do pH. As concentrações críticas para toxicidade são bastante altas, entre 400 e 1.000 mg kg^{-1} para Fe total, porém esses limites de deficiência e toxicidade não são precisos, devido à dificuldade de determinação das proporções entre o Fe^{3+} precipitado no apoplasto e o Fe^{2+} livre (tóxico) no citoplasma e nas organelas.

Manganês

As plantas absorvem o manganês na forma de cátion bivalente (Mn^{2+}). Dentro da célula, Mn^{2+} forma ligações fracas com ligantes orgânicos e pode ser rapidamente oxidado para Mn^{3+} , Mn^{4+} e Mn^{6+} . Por causa dessa relativa facilidade de mudança no estado de oxidação, o Mn apresenta importante função nos processos de oxirredução na planta, como o transporte de elétrons na fotossíntese e desintoxicação dos radicais livres de O_2 (O_2^-).

A função mais importante e estudada do Mn é o seu envolvimento na fotossíntese, na evolução do O_2 nos cloroplastos (reação de Hill). A enzima que atua na partição da molécula de água possui quatro átomos de Mn e transfere elétrons para o fotossistema II.

A deficiência de Mn afeta: (a) diretamente a fotossíntese e a evolução de O_2 , mesmo quando a de-

ficiência é moderada; (b) quebra da ultra-estrutura do cloroplasto, quando a deficiência é grave, com conseqüente queda na concentração de clorofila, pois o Mn é mais fortemente ligado na estrutura das membranas tilacóides do que na enzima responsável pela partição da água; (c) queda na atividade das superóxido-dismutases (Mn-SOD) da mesma forma que o Fe, Cu e Zn (Fe-SOD; Cu-Zn-SOD), na proteção das células contra os efeitos deletérios causados pelos radicais livres de O_2 (O_2^-) – a enzima Mn-SOD está presente na mitocôndria, nos peroxissomas e nos glioxissomas; (d) queda na atividade da NAD-málica e da PEP-carboxiquinase em plantas C_4 (absolutamente dependentes do Mn, que, nesse caso, não pode ser substituído pelo Mg, embora as enzimas NADP-málica e PEP-carboxilase possam ser ativadas por ambos, Mn ou Mg); (e) redução de 50% nas concentrações dos constituintes da membrana dos cloroplastos: os glicolipídios e os ácidos graxos polinsaturados; (f) sendo o Mn ativador de uma série de enzimas importantes na biossíntese de metabólitos secundários, a sua deficiência resulta na queda de concentração de inúmeras substâncias, como aminoácidos aromáticos, compostos fenólicos, cumarinas, ligninas, flavonóides e ácido indolacético, o que resulta em queda de resistência da planta às doenças.

Os sintomas visuais de deficiência de Mn caracterizam-se por clorose internerval das folhas mais novas e de meia-idade nas dicotiledôneas. Nos cereais, caracterizam-se por pintas verde-acinzentadas e estrias na parte basal da folha. Frequentemente, os sintomas de deficiência nas folhas de meia-idade são mais graves do que nas mais novas, o que pode ser explicado pelo transporte preferencial de Mn das raízes para o ápice da planta. Vários tipos de desordens também aparecem em sementes de leguminosas devido à deficiência de Mn, tais como descoloração escura dos cotilédones em ervilha (*Pisum sativum* L.), pintas e sementes partidas em outras espécies.

A concentração crítica de deficiência de Mn está na faixa de 10 a 15 $mg\ kg^{-1}$ de matéria seca de folhas maduras para a maioria das espécies de plantas. Em contraste com essa faixa estreita para limite de deficiência, o limite para toxicidade varia largamente entre espécies, desde 100 (para feijão, *Phaseolus vul-*

garis L.) até 5.000 $mg\ kg^{-1}$ para arroz inundado (*Oryza sativa* L.). Esses limites de toxicidade variam não só com a espécie e genótipo, mas também com o método de cultivo, suprimento de silício, temperatura e intensidade luminosa.

Molibdênio

O molibdênio é um elemento de transição que é absorvido e ocorre nas plantas na forma do ânion molibdato, em geral no estado de oxidação mais elevado (Mo^{6+}), mas pode ocorrer também como Mo^{5+} e Mo^{4+} . Devido à sua configuração eletrônica, o Mo^{6+} tem propriedades químicas muito semelhantes às do vanádio e tungstênio. As funções do Mo estão relacionadas com reações de transferência de elétrons. Em plantas superiores, poucas, mas importantes, enzimas contêm Mo: a redutase de nitrato, oxidase de sulfito (SO_3) e, nas leguminosas noduladas, a nitrogenase e desidrogenase de xantina. Essas molibdo-enzimas são proteínas muito semelhantes entre si. A redutase de nitrato atua no citoplasma das células e é um dímero com três subunidades: uma unidade FAD (flavina), uma unidade hemo (citocromo) e uma unidade com Mo. Durante a redução do nitrato, os elétrons são transferidos diretamente do Mo para o nitrato.

Em folhas deficientes em Mo ocorre: (a) queda na atividade da redutase de nitrato, havendo um aumento na concentração de compostos nitrogenados solúveis; (b) aumento na atividade da ribonuclease, enquanto a concentração de proteínas e a atividade de alanina aminotransferase diminuem, indicando o envolvimento do Mo na síntese de proteínas, o que pode explicar o efeito pronunciado da deficiência de Mo na concentração de clorofila, na estrutura do cloroplasto e no crescimento; (c) retardamento no florescimento e na formação do pólen, devido à interferência na antese, no desenvolvimento da antera e na viabilidade do pólen.

A exigência de Mo pelas plantas é muito pequena comparada à de outros micronutrientes e depende da forma de absorção do nitrogênio pela planta (fixação de N_2 , absorção de NO_3^- ou de NH_4^+). A faixa do limite de deficiência varia entre 0,1 e 1,0 $mg\ kg^{-1}$ nas folhas. As leguminosas dependentes da

fixação de N_2 pelos nódulos têm maior exigência em Mo. Os sintomas de deficiência de Mo não aparecem somente nas folhas mais novas, como ocorre para a maioria dos outros micronutrientes, porque o Mo é prontamente redistribuído na planta. Sintomas de deficiência de N são comuns em plantas deficientes em Mo, principalmente naquelas dependentes da fixação de N_2 . As folhas deficientes em Mo ficam reduzidas e deformadas, com uma ponta afilada comumente denominada de *whiptail*. Outros sintomas característicos são as manchas entre as nervuras e a clorose marginal nas folhas velhas, seguidas de pontos necróticos estreitamente relacionados com acúmulo de nitrato no tecido. Uma característica única do Mo é a ampla faixa entre o limite de deficiência e o da toxicidade, que pode chegar a um fator de 10^4 em certas espécies. Em geral, não se observam sintomas de toxicidade de Mo em plantas com concentrações entre 200 e 1.000 $mg\ kg^{-1}$.

Níquel

O níquel é quimicamente relacionado com o ferro e o cobalto. É preferencialmente absorvido pelas plantas na forma de Ni^{2+} , e sua forma de oxidação mais comum dentro dos sistemas biológicos é a bivalente, embora possa ocorrer também nas formas Ni^+ e Ni^{3+} . O níquel forma complexo estável com aminoácidos e ácidos orgânicos, como a cisteína e o citrato, e é constituinte de moléculas de enzimas. A influência do Ni, em baixas concentrações, na germinação e crescimento de várias espécies de plantas cultivadas vem sendo demonstrada há mais de 30 anos. Porém, a primeira evidência clara da função do Ni na urease de plantas superiores foi dada por Dixon em 1975. A exigência de Ni por leguminosas, independentemente da forma de N suprida, foi demonstrada por Eskew *et al.* (1984) e, para não-leguminosas, foi estabelecida por Brown *et al.*, (1987). De acordo com esses estudos, foram reunidas evidências suficientes para classificar o Ni como um nutriente essencial para as plantas superiores. Plantas superiores não podem completar seu ciclo de vida sem esse elemento, estando o Ni, portanto, incluído entre os micronutrientes.

A urease é a única enzima conhecida, até o momento, que contém Ni na sua estrutura molecular. A urease isolada da leguminosa *Canavalia ensiformis* L. tem uma massa molecular de 590 kDa e consiste em 6 subunidades (molécula hexamérica) e cada subunidade contém dois átomos de Ni, cada átomo de Ni ligado a três átomos de N e três de O, alternadamente (N – Ni – O), formando uma estrutura hexagonal.

Na ausência de Ni, plantas supridas somente com uréia não conseguem assimilar o N e ficam sujeitas à toxicidade pela uréia. A aplicação foliar de uréia está freqüentemente associada a sintomas de toxicidade, e a gravidade dos sintomas está estreitamente relacionada com o estado nutricional do Ni na planta. Em plantas noduladas, como soja, a forma principal de N transportado para a parte aérea são os ureídeos. Nas folhas, os ureídeos são degradados em NH_3 e CO_2 , sem envolver o metabolismo da uréia. Assim sendo, em soja nodulada ou em outras leguminosas ureídeas, não é de esperar uma alta exigência em Ni, comparada com a soja suprida com N mineral. Entretanto, independentemente da forma de N suprida (uréia, amônio, nitrato ou N_2 fixado nos nódulos), em plantas de soja e caupi deficientes em Ni, aparecem sintomas graves de queima e necrose nas pontas das folhas pelo acúmulo de uréia (Tabela 2.8). O teor de ureídeos permanece baixo e inalterado com o suprimento de Ni, o mesmo ocorrendo com as purinas e ácido úrico. Esses resultados indicam que a uréia é um intermediário normal no metabolismo do nitrogênio.

Sementes de trigo, cevada e aveia originadas de plantas deficientes em Ni geram plantas com sintomas graves de necrose nas pontas das folhas e acúmulo de uréia. Essas plantas apresentam menor desenvolvimento da parte aérea e raízes, folhas verde-claras com clorose internerval, e com as pontas (2 cm terminais) enroladas (incapazes de abrir). Em sementes de cevada obtidas de plantas deficientes em Ni, foi observada uma estreita relação entre conteúdo de Ni nas sementes e a viabilidade das sementes, taxa de germinação e o vigor das plântulas. A viabilidade das sementes não pode ser restabelecida pelo embebedimento das sementes em solução contendo Ni, o que indica que o Ni é essencial para o desenvolvimento da semente ainda na planta-mãe, para completar o seu ciclo de vida.

TABELA 2.3 Efeito da aplicação de níquel em plantas de caupi (*Vigna unguiculata* L.Walp) supridas com nitrato de amônio, nos teores de uréia, ureídeos e Ni nas folhas maduras

Parte da Folha	Uréia		Ureídeo		Níquel	
	+Ni	-Ni	+Ni	-Ni	+Ni	-Ni
	μmol g ⁻¹				μg g ⁻¹	
Pecíolo	0,11	0	ND	ND	ND	ND
Base da lâmina	0,56	18,1	3,6	4,5	3,73	0,11
Ponta da lâmina	2,16	238,4	ND	ND	ND	ND

Fonte: Walker *et al.* (1985). ND = não-determinado.

O nível crítico de deficiência de Ni na parte aérea de cevada está em torno de 0,1 μg g⁻¹ de matéria seca. Na maioria das espécies de plantas, o conteúdo de Ni nos órgãos vegetativos está na faixa de 1–10 μg g⁻¹ de matéria seca, dependendo da espécie. O Ni é prontamente móvel no xilema e floema, e, em algumas espécies de *Fabaceae*, é preferencialmente transportado para as sementes. Esse acúmulo tão preferencial de micronutrientes nas sementes de leguminosas só é observado para o Ni e Mo. Para as plantas cultivadas em solos e para as bactérias de solos, de modo geral, não há relatos sobre evidências claras de deficiência de Ni. Para as plantas cultivadas, a preocupação com a toxicidade de Ni é muito maior, em função da aplicação de esterco e resíduos orgânicos no solo.

Níveis críticos para a toxicidade de Ni para as plantas sensíveis estão por volta de 10 μg g⁻¹ de matéria seca, e para as moderadamente tolerantes, por volta de 50 μg g⁻¹ de matéria seca. Em plantas supridas com uréia, o nível crítico de toxicidade pode aumentar, como foi observado em trigo, em que passou de 63 para 112 μg g⁻¹ de matéria seca.

Zinco

O zinco é absorvido pelas plantas na forma catiônica (Zn²⁺); ao contrário dos outros micronutrientes-metals, não está sujeito a mudanças de valência e ocorre dentro das plantas somente na forma Zn²⁺.

Suas funções principais estão relacionadas com o acoplamento de enzimas aos seus substratos e formação de quelatos com diferentes compostos orgânicos, incluindo polipeptídios. Em plantas superiores, existem pou-

cas enzimas que contêm Zn na sua estrutura molecular: desidrogenase de álcoois, dismutase de superóxidos (Cu-Zn-SOD), anidrase carbônica e polimerase de RNA. Entretanto, muitas enzimas são ativadas pelo Zn, seja pela sua função no acoplamento da enzima ao seu substrato, seja pelo efeito na conformação das moléculas.

Por essa razão, as conseqüências da deficiência de Zn são complexas e as plantas passam a apresentar mudanças no metabolismo de carboidratos, proteínas e auxinas, além de desarranjos na integridade das membranas. O Zn possui ainda importante função na expressão e regulação gênica.

As mudanças mais importantes que ocorrem na planta pela deficiência de Zn são: (a) alteração no metabolismo de carboidratos em vários níveis, devido à queda na atividade da anidrase carbônica, enzima localizada no citoplasma e nos cloroplastos; (b) inibição da fotossíntese, provavelmente devido à desestruturação dos cloroplastos com subsequente desarranjo no transporte eletrônico; (c) acúmulo de acetaldeído nas raízes por inibição da desidrogenase de álcoois, desarranjando o processo anaeróbico da respiração (importante para o arroz inundado, por exemplo); (d) redução no teor de proteínas e aumento nos teores de aminoácidos e amidas, devido à baixa atividade da polimerase de RNA (enzima que contém Zn), redução na integridade dos ribossomos ou indução na degradação de RNA; (e) níveis elevados de radicais livres de O₂ que destroem as ligações duplas dos ácidos graxos polinsaturados e fosfolipídios nas membranas, devido à baixa atividade da dismutase de superóxido que contém Zn (Cu-Zn-SOD), o que aumenta os vazamentos de solutos nas membra-

nas (K^+ , açúcares e aminoácidos), podendo até destruir cloroplastos nas folhas, causando necrose e atrofia, particularmente sob intensa luminosidade; (f) perda da integridade das membranas também pela desestabilização e desorientação estrutural de proteínas devido à quebra das ligações do Zn com os grupos sulfidrilos (-SH).

A perda da integridade da membrana em plantas deficientes em Zn contribui para aumentar a susceptibilidade da planta às doenças fúngicas e a absorção e transporte de fósforo para a parte aérea, causando toxicidade de P nas plantas. Além disso, a redistribuição de P da parte aérea para as raízes fica inibida com a deficiência de Zn e, assim, fica descontrolado o mecanismo de demanda da parte aérea para absorção e de carregamento de P no xilema das raízes.

A demanda de Zn pelas plantas está na faixa de 15 a 30 mg kg⁻¹ de matéria seca de folhas e pode ser mais alta quando ocorre alta concentração de P no tecido. Então, em algodão ou citros, por exemplo, a concentração de Zn solúvel em água, em vez de Zn total, poderia ser um melhor parâmetro na definição da concentração crítica de deficiência, principalmente quando há alto suprimento de P. Os sintomas mais característicos de deficiência de Zn em dicotiledôneas são os internódios curtos, formando rosetas de folhas no ápice dos ramos, redução no tamanho das folhas (folhas pequenas) mais novas, com crescimento retardado e clorose. Em monocotiledôneas, particularmente em milho, faixas cloróticas podem ocorrer ao longo das nervuras das folhas, combinadas com pintas vermelhas ou escuras. Os sintomas de deficiência de Zn nas folhas velhas são o resultado da toxicidade de P e caracterizam-se por clorose internerval e necrose. O crescimento retardado e necrose das folhas mais velhas parecem ser induzidos por radicais livres de superóxidos. A concentração crítica para a toxicidade de Zn nas folhas de plantas cultivadas pode variar de 200 a 500 mg kg⁻¹, podendo chegar a 8.000 mg kg⁻¹ em espécies nativas tolerantes.

ELEMENTOS BENÉFICOS

Os elementos minerais que estimulam o crescimento mas não são essenciais, ou que são essenciais apenas para algumas espécies de plantas, ou sob con-

dições específicas, são usualmente chamados de elementos benéficos. Estão entre estes o sódio, o silício, o cobalto, o selênio e o alumínio. A distinção entre elementos benéfico e essencial fica difícil no caso de alguns elementos-traço, devido às dificuldades para a sua análise química e às contaminações nos experimentos com plantas.

Sódio

A maioria das plantas superiores desenvolveu alta seletividade para o K^+ comparado ao Na^+ . As espécies de plantas podem ser natrofilicas ou natrofóbicas, dependendo da sua resposta ao sódio no crescimento, sua capacidade de absorção pelas raízes e transporte a longa distância para a parte aérea. As diferenças, quanto a essa capacidade, são grandes entre espécies e entre genótipos dentro de espécies. As diferenças genotípicas na absorção pelas raízes estão relacionadas a diversos fatores, tais como atividade das bombas de efluxo de sódio, permeabilidade da membrana plasmática ao transporte passivo de sódio.

Quanto às funções do Na^+ na nutrição mineral das plantas, três aspectos devem ser considerados: (a) sua essencialidade para certas espécies de plantas; (b) em quais funções pode substituir o K^+ ; e (c) quais os efeitos promotores adicionais no crescimento das plantas.

A) SÓDIO COMO NUTRIENTE MINERAL

A essencialidade do sódio para algumas espécies vegetais tem sido demonstrada em plantas halófitas acumuladoras de Na. Para algumas espécies-CAM e algumas espécies C_4 dentro das famílias Amaranthaceae, Chenopodiaceae (beterraba, beterraba de mesa, nabo etc.) e Cyperaceae, o sódio é um nutriente, requerido em pequenas quantidades, mais típico de um micronutriente. Portanto, o sódio é essencial para algumas espécies C_4 , mas não para todas, e não é essencial para as espécies C_3 . Milho e cana-de-açúcar, por exemplo, são espécies tipicamente natrofóbicas (não toleram o sódio) e têm crescimento similar na presença ou ausência de Na^+ . Nas espécies C_4 para as quais o Na^+ é essencial, a deficiência de Na^+ impede a conversão de piruvato em fosfoenolpiruvato

(PEP), reação que ocorre nos cloroplastos do mesófilo e requer muita energia provida pela fotofosforilação. Nessas espécies, como na *Atriplex tricolor* e na *Kochia childsii*, a atividade do fotossistema II no mesófilo dos cloroplastos fica reduzida e a ultra-estrutura drasticamente alterada. O ressuprimento com Na^+ restabelece a atividade do fotossistema II e o nível dos metabólitos dentro de três dias.

B) SÓDIO COMO SUBSTITUTO DO POTÁSSIO E ESTIMULANTE DO CRESCIMENTO

Os efeitos benéficos do sódio em algumas espécies de plantas não-halófitas permitem dividi-las em quatro grupos:

Grupo A – nessas espécies, parte do potássio pode ser substituída pelo sódio; este promove um crescimento adicional das plantas que não pode ser obtido com o aumento na dose de potássio – estão nesse grupo, principalmente, as plantas da família Chenopodiaceae (beterraba, beterraba de mesa, nabo etc.) e algumas gramíneas C_4 (como a grama *Rhodes*).

Grupo B – as espécies respondem ao sódio em crescimento, mas de maneira menos distinta, e uma proporção menor de potássio pode ser substituída pelo sódio – estão dentro desse grupo o repolho, o rabanete, o algodão, a ervilha, o trigo e o espinafre.

Grupo C – nas espécies desse grupo, o potássio pode ser substituído pelo sódio apenas em pequena proporção, e o sódio não tem efeito específico no crescimento das plantas (cevada, milho, arroz, aveia, tomate, batata e a grama *ryegrass*).

Grupo D – nenhuma substituição do potássio é possível – estão dentro desse grupo o milho, o centeio, a soja, o feijão-*Phaseolus*, a cana-de-açúcar e a grama-*timothy*.

Como regra, as diferenças entre as espécies natrofilicas e natrofóbicas nas respostas ao sódio em crescimento estão relacionadas às diferenças na absorção pelas raízes e no transporte de sódio para a parte aérea.

Silício

O silício é abundante na crosta terrestre, e a sua forma predominante na solução do solo é a de ácido

monossilícico $[\text{Si}(\text{OH})_4]$, que tem similaridades com o ácido bórico, pois ambos são ácidos fracos em solução aquosa e interagem com pectinas e polifenóis da parede celular.

Entretanto, a essencialidade do silício (Si) foi demonstrada apenas para um pequeno número de espécies silicófilas, como a *Equisetum arvense* e certas espécies de gramíneas de áreas inundadas. Em arroz inundado, a falta de Si leva à queda no crescimento e na produção de grãos. Os sintomas de deficiência caracterizam-se por necrose das folhas maduras e secamento das plantas. Entretanto, não ficou demonstrado que o arroz não consegue completar o seu ciclo de vida sem o Si, assim como para as demais plantas em que tem sido demonstrado o efeito benéfico do Si.

As plantas diferem na sua capacidade de absorver silício e, dependendo dos teores na matéria seca, podem ser divididas em três grupos principais: (a) membros da família Cyperaceae (como a *Equisetum arvense*) e das espécies de gramíneas de áreas inundadas, como o arroz, que apresentam teores de Si da ordem de 100 a 150 mg kg^{-1} na matéria seca; (b) gramíneas de sequeiro (terra alta), como a cana-de-açúcar, a maioria das espécies de cereais e algumas dicotiledôneas, que apresentam de 10 a 30 mg kg^{-1} na matéria seca; (c) a maioria das dicotiledôneas, especialmente leguminosas, que apresentam menos de 5 mg kg^{-1} na matéria seca.

O Si é depositado nas paredes das células dos vasos do xilema, o que confere rigidez e resistência, importante na prevenção da compressão dos vasos sob elevada taxa de transpiração, do acamamento das plantas e, também, da invasão de patógenos e parasitas no córtex. Esse processo não é puramente físico, está sob controle metabólico e depende do estágio de desenvolvimento da planta.

No entanto, a deposição de Si nas folhas, colmos, brácteas da inflorescência e nas fibras das espiguetas dos cereais, de gramas do gênero *Phalaris* e do milho (*Setaria italica*) é suspeita de formar fibras silicosas longas e pontiagudas classificadas como carcinogênicas, pois foi constatada alta incidência de câncer de esôfago na China, pelo insumo de milho, e no Oriente Médio, pelo insumo de trigo, contaminados com *Phalaris*.

Cobalto

Em 1963, foi isolada a cobalamina (coenzima B₁₂) de raízes de leguminosas e não-leguminosas, ficando demonstrada a interdependência entre o suprimento de Co, o conteúdo da coenzima B₁₂ em *Rhizobium*, a formação da leg-hemoglobina e a fixação de N₂. Assim, ficou estabelecida a exigência de Co para os microrganismos fixadores de N₂, inclusive o *Rhizobium*. A coenzima cobalamina possui Co³⁺ como componente metálico, ligado a quatro átomos de nitrogênio no centro de uma estrutura de porfirina semelhante à do Fe dentro do grupo hemo. Em *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* existem três enzimas importantes dependentes do Co.

Portanto, em leguminosas dependentes da fixação de N₂, os sintomas visuais de deficiência de Co são típicos sintomas de deficiência de N. O teor de Co nas sementes dessas plantas tem grande importância quando cultivadas em solos com deficiência do elemento. Existem diferenças consideráveis entre espécies, quanto à sensibilidade à deficiência de Co. Assim, *Lupinus angustifolius* é bastante sensível comparada a *Trifolium subterraneum*, muito mais tolerante.

Não existem evidências de qualquer função direta do Co no metabolismo de plantas superiores. Alguns efeitos benéficos do Co foram reportados para algumas plantas não-fixadoras de N₂, supridas com N mineral, porém de pequena expressão.

A aplicação de Co às plantas forrageiras, provindas de solos deficientes em Co, é importante para os ruminantes, pois o Co é essencial para a microflora do rúmen na síntese da vitamina B₁₂ em quantidade suficiente para atender à necessidade do animal. Os animais não-ruminantes e o homem precisam da vitamina B₁₂ pré-formada. O teor de Co nas plantas varia entre 0,05 e 0,30 mg kg⁻¹ e usualmente é maior nas leguminosas do que nas gramíneas. Os níveis de toxicidade de Co para as plantas variam muito entre as espécies; nas acumuladoras adaptadas a solos metalíferos, o teor de Co pode chegar a 4.000 a 10.000 mg kg⁻¹ de matéria seca.

Selênio

O selênio (Se) tem características químicas semelhantes às do enxofre. Pode existir em vários estados

de oxidação, mas o preferido pelas plantas é o selenato (SeO₄²⁻). O sulfato e o selenato competem pelos mesmos sítios ou locais de absorção na membrana plasmática das raízes, e, assim sendo, a absorção de selenato pode ser fortemente reduzida aumentando o suprimento de sulfato às plantas.

Em plantas do gênero *Astragalus* parece haver um efeito benéfico do Se na prevenção da absorção excessiva de fosfatos, quando em condição de alto P no ambiente externo. Em situação normal de P, não há efeito do Se no crescimento das plantas. O alto conteúdo de Se nas plantas pode ser benéfico no sentido de defesa contra o ataque de insetos. Por outro lado, a maior parte das espécies cultivadas não é acumuladora, e sintomas de toxicidade por Se nas plantas podem aparecer para teores na parte aérea acima de 100 mg kg⁻¹ de Se na matéria seca.

O Se é um elemento essencial aos animais e seres humanos em pequenas quantidades – 0,1 a 0,3 mg kg⁻¹ na matéria seca da dieta, porém altamente tóxico. Sua deficiência causa sintomas de distrofia muscular e desordens reprodutivas. O teor máximo de Se nas forragens tolerado pelos animais está entre 1,0 e 5,0 mg kg⁻¹ de Se na matéria seca. A toxicidade por Se pode ser *aguda*, quando leva rapidamente à morte; *crônica*, quando causa cegueira e paralisia; e em casos menos graves, quando causa fraqueza e perda de vitalidade.

De acordo com a capacidade de tolerar altas concentrações de Se, as plantas podem ser classificadas em *acumuladoras* e *não-acumuladoras* de Se. Muitas espécies do gênero *Astragalus*, *Xylorrhiza* e *Stanleyea* são tipicamente acumuladoras de Se e capazes de crescer em solos seleníferos sem nenhum efeito depressivo no seu crescimento, podendo acumular até 20 a 30 g kg⁻¹ de Se na matéria seca. Plantas da família das Cruciferae, como mostarda preta e brócolis, também acumulam grandes quantidades de Se na matéria seca.

Alumínio

O alumínio (Al) é um elemento abundante nos solos, e seu teor disponível ou livre na forma Al³⁺ na solução do solo depende do pH. Geralmente ocorre

em baixas concentrações em solos com pH acima de 5,5 e altas concentrações em solos com pH mais baixo, o que é típico na maioria dos solos do Cerrado do Brasil. O principal interesse em relação ao Al está na habilidade das plantas de tolerar quantidades tóxicas desse elemento (Al^{3+}), bastante variável entre espécies e genótipos.

Não existe nenhuma evidência convincente de que o Al seja um elemento mineral essencial às plantas, nem mesmo para as espécies acumuladoras. Entretanto, existem relatos de efeitos benéficos de baixas concentrações de Al (entre 71,4 e 185 $\mu\text{mol L}^{-1}$), no solo ou na solução nutritiva, no crescimento das plantas como beterraba, milho e algumas leguminosas tropicais. Em plantas de chá, uma das mais tolerantes ao Al, tem-se observado estímulo no crescimento pela presença de Al; entretanto, esse efeito benéfico é difícil de quantificar em função do desconhecimento da concentração nominalmente livre (atividade iônica) do Al. A natureza do efeito benéfico do Al no crescimento das plantas não está clara, mas existem substanciais evidências de que é um efeito indireto, na maioria das vezes relacionado com a competição (ou precipitação) com outros elementos minerais presentes em quantidades tóxicas, principalmente P, Zn e Cu.

MICORRIZAS ARBUSCULARES E A ABSORÇÃO DE NUTRIENTES PELAS PLANTAS

As micorrizas são associações bastante comuns entre fungos e raízes de plantas superiores. A maioria das plantas estabelecidas em solos possui raízes micorrizadas. De maneira geral, 83% das dicotiledôneas, 79% das monocotiledôneas e todas as Gimnospermas são micorrizadas. Em solos secos, salinos, inundados, com fertilidade extremamente alta ou baixa, ou destruídos por atividade de extração de minérios, não ocorrem micorrizas. As micorrizas não estão presentes ainda, em qualquer condição ambiental, nas Crucíferas, nas Chenopodiáceas, e são muito raras nas Proteáceas.

Em geral, o fungo é forte ou totalmente dependente da planta superior, enquanto a planta pode ou não ser

beneficiada. Algumas plantas, como as orquídeas, são dependentes das micorrizas para o início do desenvolvimento das plântulas recém-germinadas. As associações micorrízicas podem ser, portanto, mútuas, neutras ou parasíticas em relação à planta, dependendo das circunstâncias. A associação mútua predomina, daí o termo simbiose micorrízica ser muito frequentemente utilizado na literatura, porém o termo associação é mais adequado, visto que a associação neutra ou parasítica não é rara, e a planta hospedeira tem um controle limitado sobre o grau de infecção radicular, o crescimento e a competição do fungo por carboidratos.

Existem dois grandes grupos de micorrizas definidos pelo modo como o micélio do fungo se relaciona com a estrutura das raízes: as endomicorrizas e as ectomicorrizas (Fig. 2.7).

Nas endomicorrizas, o fungo vive dentro das células corticais e cresce também entre as células. Existem muitos tipos de endomicorrizas, sendo os mais conhecidos as micorrizas vesículo-arbusculares (MVA), as micorrizas ericóides (que ocorrem nas Ericales) e as micorrizas orquídeas (que ocorrem nas orquídeas). As MVA são as mais abundantes e predominantes entre todas as endo e ectomicorrizas. As MVA caracterizam-se pela formação de arbúsculos dentro das células do córtex e por um micélio que se estende bem para fora no solo em torno do sistema radicular. Esses arbúsculos são o ponto de troca de solutos com a planta hospedeira. Porém, nem todas as endomicorrizas arbusculares formam vesículas, que são órgãos de reserva ricos em lipídios, daí o termo micorriza arbuscular (MA) ser bastante usado na literatura mais recente. Os fungos MAV pertencem a quatro gêneros principais: *Acaulaspóra*, *Gigaspora*, *Glomus* e *Sclerocystis*. O gênero *Glomus* parece ser o mais abundante dos fungos de solo.

As ectomicorrizas caracterizam-se por formar uma manta de hifas em volta da superfície externa das raízes e hifas que penetram os espaços intercelulares do córtex, formando uma rede de micélio que envolve totalmente as células do córtex, aumentando a área de contato entre o fungo e a planta (Fig. 2.7). As ectomicorrizas ocorrem principalmente nas raízes das espécies florestais e, ocasionalmente, em espécies de

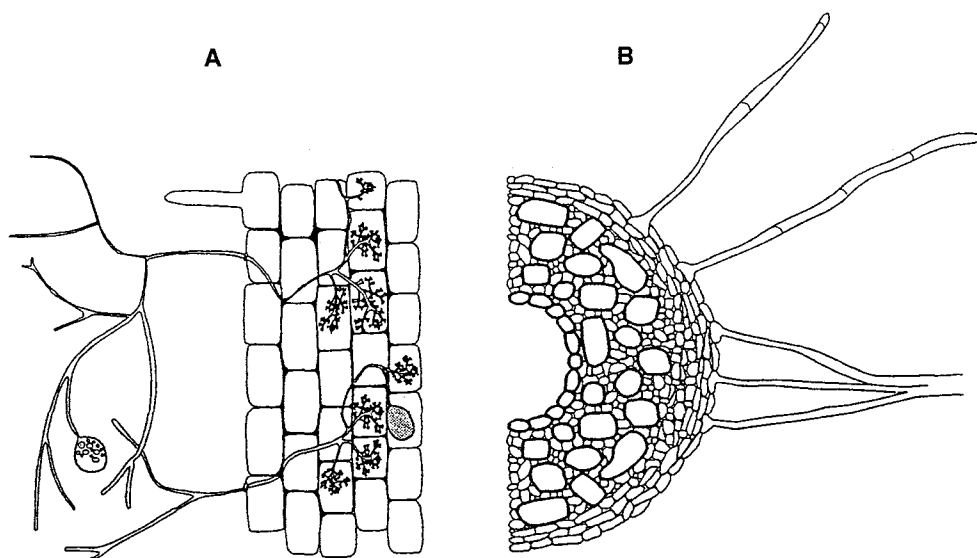


Fig. 2.7 Representação esquemática de um corte de raiz infectada com micorrizas: (A) principais características estruturais da micorriza vesículo-arbuscular; e (B) das ectomicorrizas. (Reproduzido de Marschner, 1995, 2.^a ed., p.567, com permissão de Elsevier.)

herbáceas ou de gramíneas perenes. As ectomicorrizas são, na sua maioria, formadas por Basidiomicetos, mas muitas também por Ascomicetos. Em muitas espécies florestais, ambas as micorrizas (endo e ecto) ocorrem simultaneamente.

O efeito principal das MAV no crescimento das plantas consiste no suprimento adicional de nutrientes minerais de baixa mobilidade na solução do solo, predominantemente o fósforo. As hifas externas podem absorver e transportar fósforo do solo para a planta hospedeira de distâncias bem maiores do que a área da rizosfera da planta. Como regra, plantas micorrizadas apresentam taxas de absorção de fósforo (por unidade de comprimento de raiz) duas a três vezes maiores do que as plantas não-micorrizadas. As micorrizas arbusculares são, portanto, de fundamental importância para a nutrição fosfatada de plantas cultivadas, devido às características de baixa disponibilidade e mobilidade do elemento na grande maioria dos solos brasileiros.

As associações entre fungos e plantas cultivadas são complexas e estão sob controle genético, sofrendo variações com as espécies ou cultivares, bem como pelo ambiente. Características do genoma da planta que influenciam o tipo e a morfologia do sistema radicular são apontadas como causas das diferenças no

grau de dependência micorrízica e resposta à inoculação de várias espécies vegetais.

Os cereais, cujos sistemas radiculares possuem raízes finas, com pêlos longos e densos, são menos dependentes dessa associação. Assim, num estudo de dependência micorrízica e absorção de nutrientes, verificou-se que a colonização das raízes dos tratamentos com inoculação variou de 62 a 87% para soja e 49 a 68% para o milho. A soja apresentou dependência micorrízica mais elevada que o milho, e uma variação considerável na colonização ocorreu dentro dos cultivares de soja. Em trigo e triticale, diferentes graus de infecção, de dependência micorrízica e de porcentagem de colonização de raízes foram observados entre cultivares comerciais e melhoradas, cultivadas em solo com baixo nível de P. Em milheto, foi observada variação na associação micorrízica entre 30 genótipos, com amplitude de intensidade de colonização entre 25 e 56%. Grande variabilidade para a associação micorrízica existe também entre cultivares de ervilha, entre e dentro de espécies de forrageiras de inverno (plantas C₃) e de verão (plantas C₄), entre espécies de leguminosas forrageiras arbóreas e entre genótipos de sorgo. A dependência do hospedeiro e herdabilidade da colonização micorrízica foram verificadas em ervilha e caupi.

Os efeitos da infecção micorrízica no desenvolvimento do hospedeiro podem ser mínimos e até nulos ou depressivos, quando sob elevados níveis de adubação. O potencial para seleção de genótipos que possam ser rapidamente infectados e que respondam positivamente à infecção tem sido ignorado em muitos programas de melhoramento de plantas. Dessa forma, tem-se perdido variabilidade genética para a infecção micorrízica ou resposta a esta, bem como para a eficiência de absorção e uso de nutrientes pelas culturas que apresentam tal capacidade associativa diferencial. Postula-se que, se os programas de melhoramento de plantas persistirem em não considerar a contribuição das micorrizas, haverá grande probabilidade de perda da variabilidade para essa associação. É que, se as práticas de manejo favoráveis à manutenção da alta infectividade do solo forem reduzidas, os efeitos benéficos das micorrizas na estrutura do solo, nas relações hídricas, na tolerância a doenças e na nutrição das plantas poderão ficar sensivelmente reduzidos ou, até mesmo, desaparecer.

REFERÊNCIAS

- Alexander I. Mycorrhizas in tropical forests. In: Protector J (ed). *Mineral Nutrients in Tropical Forests and Savannah Ecosystems*. Blackwell, Oxford, 1989, pp 169-188.
- Ankel-Fuchs D, Thauer RK. Nickel in biology: Nickel as an essential trace element. In: Lancaster JR (ed). *The Bioinorganic Chemistry of Nickel*. Verlag Chemie, Weinheim, 1988, pp 93-110.
- Asher CJ Beneficial elements, functional nutrients, and possible new essential elements. In: Mortvedt JJ, Cox FR, Shuman LM, Welch RM (eds). *Micronutrients in Agriculture*. Madison, Soil Science Society of America, Book Series, n 4, 1991, pp 703-723.
- Barber SA. *Soil Nutrient Bioavailability. A Mechanistic Approach*, 2nd ed. John Wiley, New York, 1995, 414p.
- Bellaloui N, Brown PH, Dandekar AM. Manipulation of *in vivo* sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco. *Plant Physiology*, 1999; 119:735-742.
- Blatt MR, Thiel G. Hormonal control of ion channel gating. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1993; 44:543-567.
- Brown PH, Welch RM, Cary EE. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology*, 1987; 85:801-803.
- Brown PH, Shelp BJ. Boron mobility in plants. *Plant and Soil*, Dordrecht, 1997; 193:85-101.
- Brown PH, Bellaloui N, Hu H, Dandekar A. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. *Plant Physiology*, 1999; 119:17-20.
- Brown PH, Welch RM, Madison JT. Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid, and nitrogen levels in barley. *Plant and Soil*, Dordrecht, 1990; 125:19-27.
- Brunold C. Regulatory interactions between sulfate and nitrate assimilation. In: Dekok LJ, Stulen I, Rennenberg H, Brunold C, Rauser WE (eds). *Sulfur Nutrition and Assimilation in Higher Plants*. The Hague, SPB Academic Publishing, 1993, pp 62-75.
- Bussler W. Physiological functions and utilization of copper. In: Loneragan JF, Robson, AD, Graham, RD (eds). *Copper in Soils and Plants*. Academic Press, London, 1981, pp 213-234.
- Cassab GI, Varner JE. Cell wall proteins. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1988; 39:321-353.
- Clarkson DT. Membrane structure and transport. In: Smith H (ed). *The Molecular Biology of Plants Cells*, Oxford, Blackwell, 1977, pp 24-63.
- DeKok LJ, Stulen I. Role of glutathione in plants under oxidative stress. In: DeKok LJ, Stulen I, Rennenberg H, Brunold C, Rauser WE (eds). *Sulfur Nutrition and Assimilation in Higher Plants*. The Hague, SPB Academic Publishing, 1993, pp 125-138.
- Eichert T, Burkhardt J. Quantification of stomatal uptake of ionic solutes using a new model system. *Journal of Experimental Botany*, 2001; 52:771-781.
- Epstein E. Mineral metabolism. In: Bonner J, Varner, JE (eds). *Plant Biochemistry*. London, Academic Press, 1965, pp 438-446.
- Eskew DL, Welch RM, Norwell WA. Nickel in higher plants. Further evidence for an essential role. *Plant Physiology*, 1984; 76:691-693.
- Glass ADM. Regulation of ion transport. *Annual Review of Plant Physiology*, 1983; 34:311-326.
- Haynes RJ. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: their role in ion accumulation by plants. *Botany Review*, 1980; 46:75-99.
- Hedrich R, Schroeder JI, Fernandez JM. Patch clamp studies on higher plant cells: a perspective. *Trends in Biochemical Sciences*, 1986; 12:49-52.

- Hewitt EJ, Notton BA. Nitrate reductase system in Eukariotic and Prokariotic organisms. In: Coughan M (eds). Molybdenum and molybdenum containing enzymes. Pergamon Press, Oxford, England, 1980, pp 273-325.
- Hopkins WG. *Introduction to Plant Physiology*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc, Toronto, 1999, 512p.
- Kreuz CL, Lanzer EA, Paris Q. Funções de produção von liebige com rendimentos decrescentes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 1995; 30(1):95-106.
- Kurdjian A, Guern J. Intracellular pH: measurement and importance in cell activity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1989; 40:271-303.
- Laurie SH, Tancock NP, McGrath SP, Sanders JR. Influence of complexation on the uptake by plants of iron, manganese, copper and zinc. I. Effect of EDTA in a multi-metal and computer simulation study. *Journal of Experimental Botany*, 1991; 42:509-513.
- Loughman BC. Metabolic factors and the utilization of phosphorus by plants. In: *Phosphorus in the Environment: Its Chemistry and Biochemistry*. Amsterdam, Elsevier, 1978; pp 155-174.
- Malavolta E. *Elementos de Nutrição Mineral de Plantas*. Editora Agronômica Ceres Ltda, São Paulo, 1980, pp 9-15.
- Marschner H. General Introduction to the Mineral Nutrition of Plants. In: Läuchli A, Bielecki, RL (ed). *Encyclopedia of Plant Physiology*. Berlin, New Series, v 12 (Inorganic Plant Nutrition). Springer-Verlag, 1983, pp 5-60.
- Marschner, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed. London, Academic Press, 1995, 889p.
- Mengel K, Kirkby EA. *Principles of Plant Nutrition*, 5th ed. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2001, 849p.
- Ploeg RR, Böhm W, Kirkham MB. History of Soil Science. On the Origin of the Theory of Mineral Nutrition of Plants and the Law of the Minimum. *Soil Science Society of American Journal*, 1999; 63:1055-1062.
- Reid RJ. Kinetics of nutrient uptake by plant cells. In: Rengel Z (ed). *Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications*. New York, Food Products Press, 1999, pp 41-66.
- Rengel Z (ed). *Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications*. New York, Food Products Press, 1999. 399p.
- Römheld V, Marschner H. Functions of micronutrients in plants. In: Mordvedt JJ, Cox FR, Shuman LM, Welch RM (eds). *Micronutrients in Agriculture*, 2nd ed. SSSA Book Series, n 4, Madison, WI, USA, 1991, pp 297-328.
- Schmidt A, Jäger K. Open questions about sulfur metabolism in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992; 43:325-349.
- Shelp BJ. Physiology and biochemistry of boron in plants. In: Gupta UC (ed). *Boron and its Role in Crop Production*. CRC Press, Florida, 1993, pp 53-85.
- Siqueira, JO *Biologia do Solo*. Lavras, ESAL/FAEPE, 1993, 230p.
- Smith FW. Molecular biology of nutrient transporters in plant membranes. In: Rengel Z (ed). *Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications*. New York, Food Products Press, 1999, pp 67-89.
- Smith FW, Ealing PM, Hawkesford MJ, Clarkson DT. Plant members of a family of sulfate transporters reveal functional subtypes. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*, 1995; 92:9373-9377.
- Smith SE, Robson AD, Abbott LK. The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. In: Randall PJ, Delhaitze E, Richards RA, Munns R (eds). *Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition*. Dordrecht, Kluwer Academic, 1993, pp 221-231 (Developments in Plant and Soil Sciences, 50).
- Tinker PB, Jones MD, Durall DM. A functional comparison of ecto- and endomycorrhizas. In: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ. (eds). *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB International, Wallingford, 1992, pp 303-310.
- Tyerman SD. Anion channels in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992; 43:351-373.
- Welch RM. Importance of seed mineral nutrient reserves in crop growth and development. In: Rengel Z (ed). *Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications*. Food Products Press, New York, 1999, pp 205-226.
- Welch RM. Micronutrient nutrition of plants. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences*, 1995; 14:49-82.
- Wilcox HE. Mycorrhizae. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds). *Plant Roots: the Ridden Half*. Marcel Dekker, New York, 1991, pp 731-765.
- Wolswinkel, P. Long-distance nutrient transport in plants and movement into developing grains. In: Rengel Z (ed). *Mineral Nutrition of Crops: Fundamental Mechanisms and Implications*. Food Products Press, New York, 1999, pp 91-113.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Bell PF, Chaney RL, Angle JS. Free metal activity and total metal concentrations as indices of micronutrient availability to barley [*Hordeum vulgare* (L) Klages]. *Plant and Soil*, Dordrecht, 1991, 130:51-62.
- Bellaloui N, Brown PH, Dandekar, AM. Manipulation of *in vivo* sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco. *Plant Physiology*, 1999; 119:735-742.
- Blatt MR, Thiel, G. Hormonal control of ion channel gating. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1993; 44:543-567.
- Brown PH, Shelp BJ. Boron mobility in plants. *Plant and Soil*, Dordrecht, 1997; 193:85-101.
- Brown PH, Bellaloui N, Hu H, Dandekar A. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. *Plant Physiology*, 1999;119:17-20.
- Brown PH, Welch, RM, Cary EE. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology*, 1987; 85:801-803.
- Brown PH, Welch RM, Madison JT. Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid, and nitrogen levels in barley. *Plant and Soil*, Dordrecht, 1990; 125:19-27.
- Eskew DL, Welch RM, Norwell WA. Nickel in higher plants. Further evidence for an essential role. *Plant Physiology*, 1984; 76:691-693.
- Laurie SH, Tancock NP, McGrath, SP, Sanders JR. Influence of complexation on the uptake by plants of iron, manganese, copper and zinc. I. Effect of EDTA in a multi-metal and computer simulation study. *Journal of Experimental Botany*, 1991; 42:509-513.
- Marschner H. Mechanism of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil*, 1991b; 134:1-20.
- Römheld V. Different strategies for iron acquisition in higher plants. *Physiologia Plantarum*, 1987; 70:231-234.
- Tester M. Plant ion channels: Whole cell and single channel studies. *New Phytologist*, 1990; 114:305-340.

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 ecossfera 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 princi-

pal 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

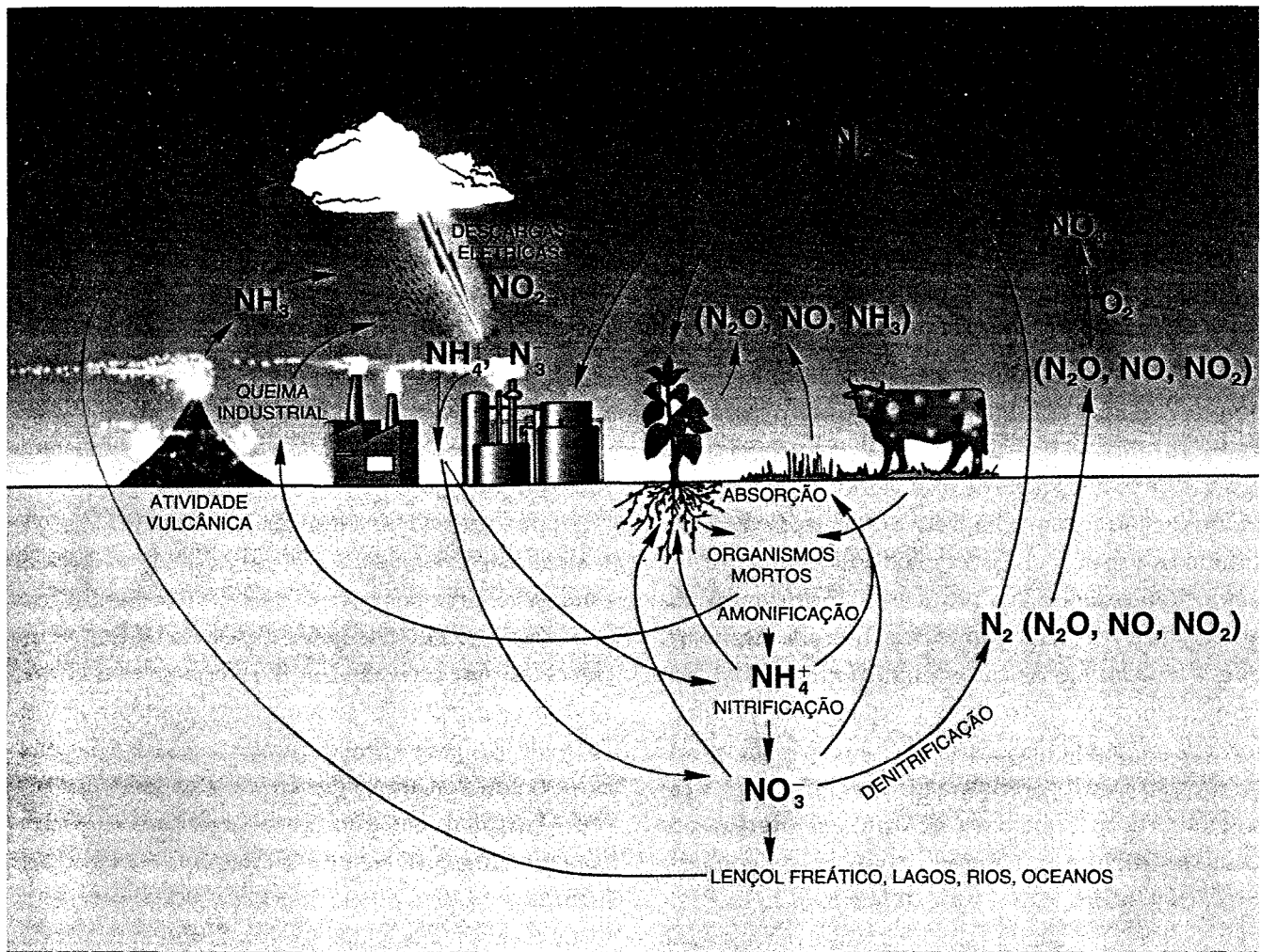


Fig. 3.1 Ciclo do nitrogênio envolvendo os compartimentos solo, planta e atmosfera (explicação no texto). (Salisbury & Ross, 1991, modificado.)

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 desnitrificação ou por lixiviação. A adubação excessiva com sais de nitrato, seguida de chuva abundante, faz com que esses sais sejam carreados

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 anaeróbicas utilizam o nitrato como receptor 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 pteridófito *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 microssimbiontes 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 O_2 (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 microssimbionte permanece 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* (Ulmaceae) 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 estrutu-

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

ras 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. Consideraram-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 microsimbionte depende diretamente do hospedei-

ro 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 ureídeos, 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 atmosférico. 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 conseqüência, 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 antagonistas 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 simbionte 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 desen-

volvimento 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 simbionte e o hospedeiro. Seu produto proteico 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-nodulina 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 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.

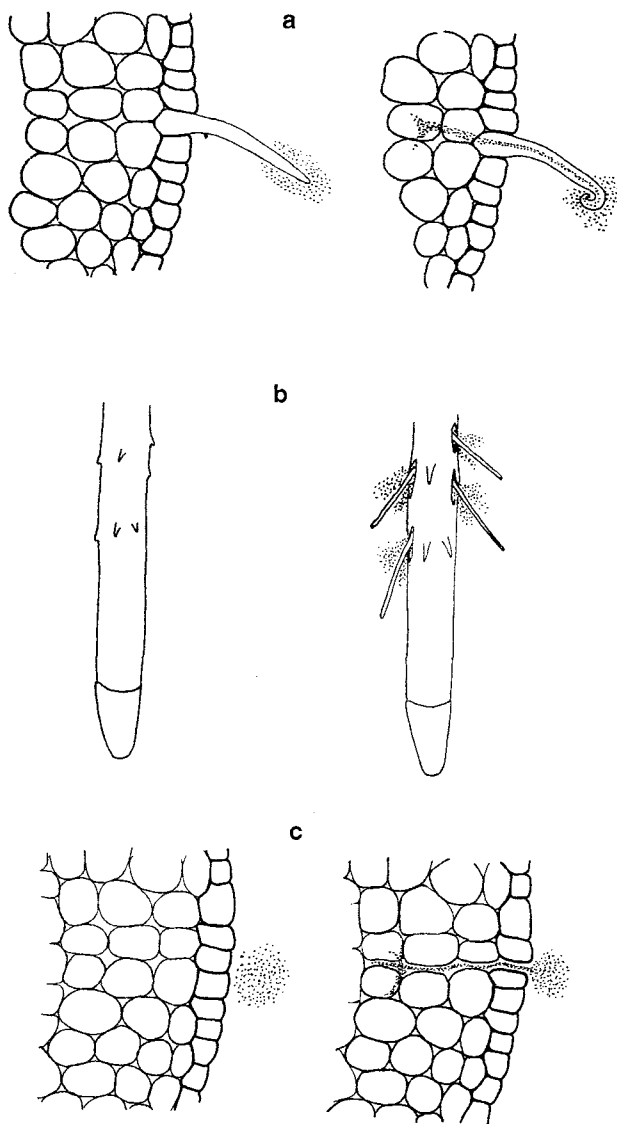


Fig. 3.2 Tipos de infecção radicular: a- via pêlo radicular; b- via emergência de raízes laterais; c- via epiderme intacta.

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 ativi-

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

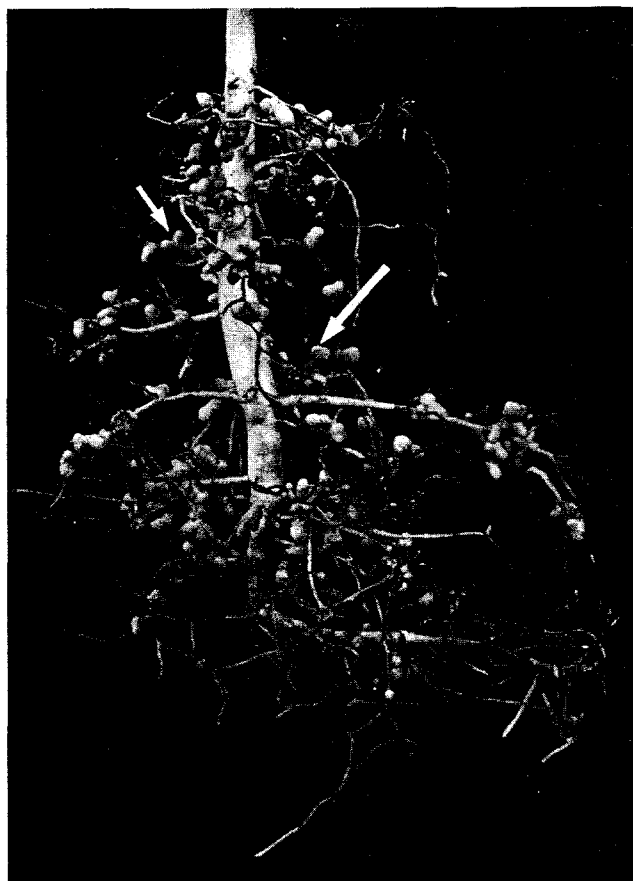


Fig. 3.3 Sistema radicular de *Lonchocarpus muelhbergianus* (embira-de-sapo) desenvolvida em casa de vegetação, com nódulos de crescimento indeterminado (seta maior). Formação de dois lóbulos na extremidade distal (seta menor), resultante da atividade do meristema apical. (Cordeiro *et al.*, 1996.)

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

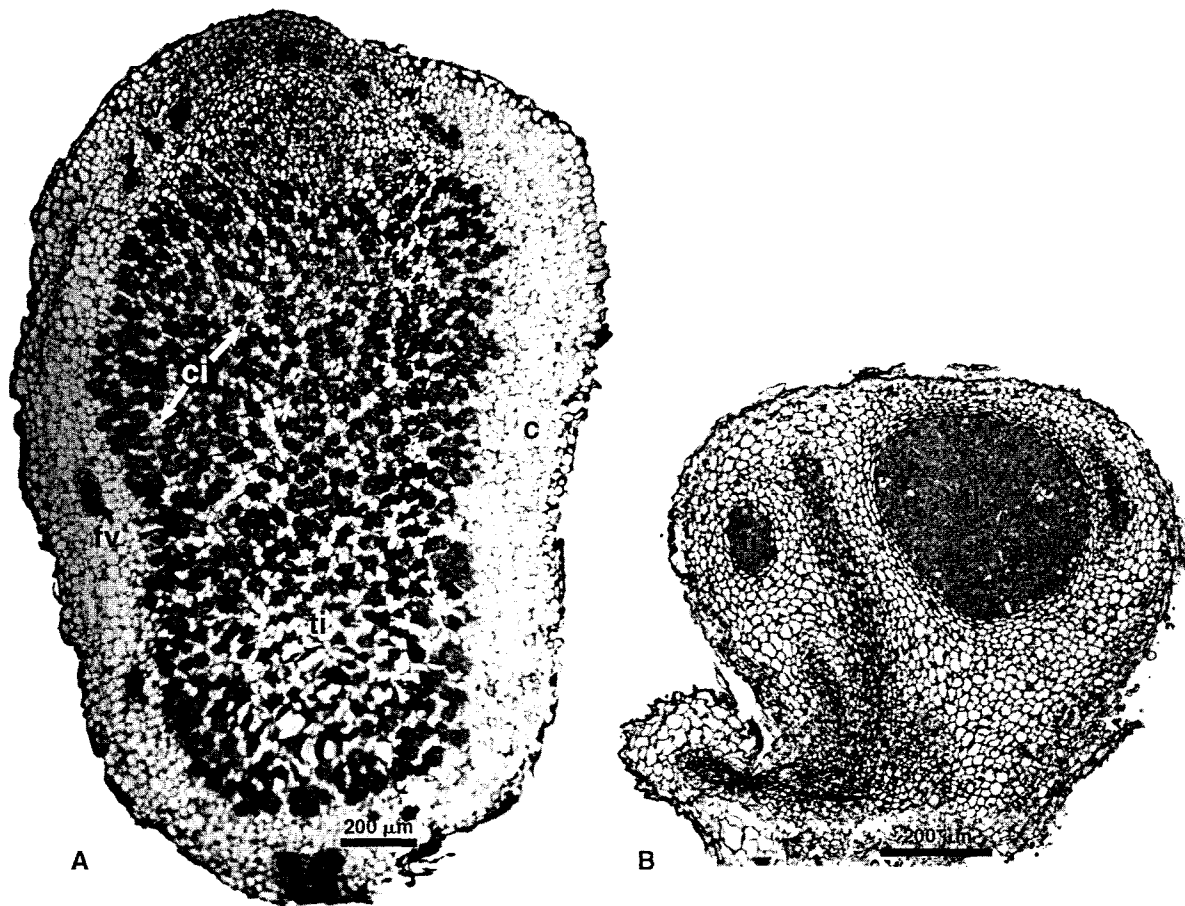


Fig. 3.4 Aspecto geral do nódulo indeterminado de *Lonchocarpus leucanthus* (A) e determinado de *Dalbergia nigra* (B), ambos seccionados longitudinalmente. c- córtex, ti- tecido infectado, m- meristema apical, fv- feixe vascular; ci- células intersticiais; cf- células infectadas.

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* (Sprenst, 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



Fig. 3.5 Eletromicrografias 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.)

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.

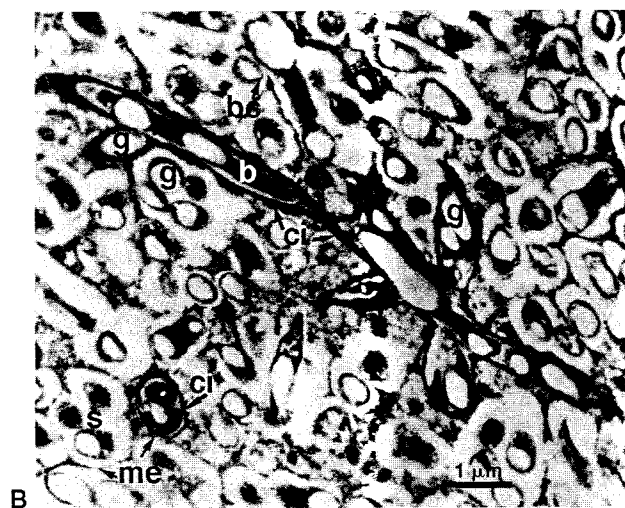
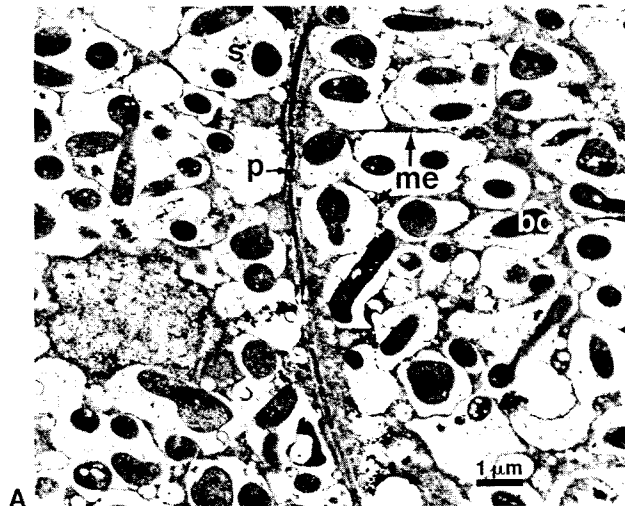


Fig. 3.6 Células infectadas de *Tipuana tipu* (A) e de *Lonchocarpus leucanthus* (B). p- parede celular; b- bactéria; bc- bacteróide; me- membrana-envelope; g- grânulo de ácido β-hidroxibutírico; ci- corrente de infecção; s- simbiossomo.

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 leguminosas 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.

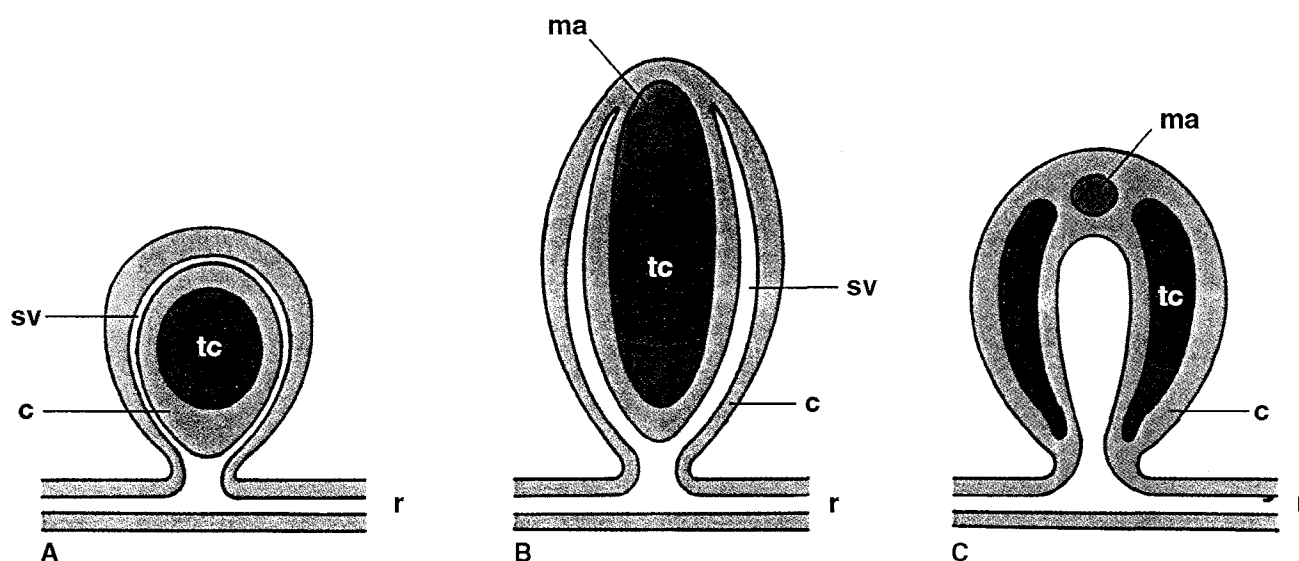


Fig. 3.7 Esquema da estrutura de nódulos de leguminosas determinado (A) e indeterminado (B), resultantes da associação com rizóbio, e indeterminado de angiosperma não-leguminosa (C), resultante da associação com actinomiceto. r- raiz; c- córtex; sv- sistema vascular; tc- tecido infectado; ma- meristema 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.

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 nitrogenase, 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 simbiossomas. 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 reconhecí-

vel 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

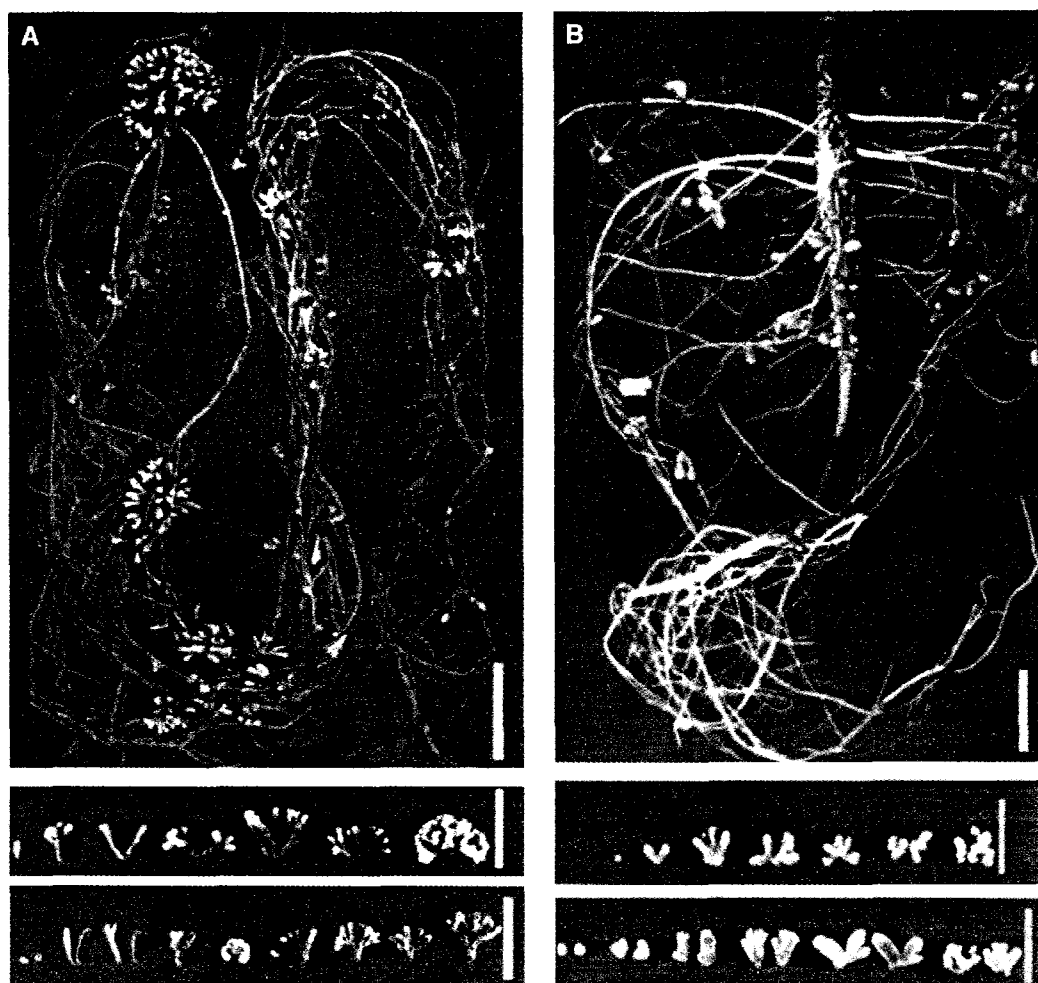


Fig. 3.8 Raízes noduladas de *Mimosa bimucronata* (A) e *Lonchocarpus muehlbergianus* (B) com 120 dias de idade. Figuras superiores: distribuição dos nódulos no sistema radicular; figuras medianas: nódulos em diferentes estádios de desenvolvimento; figuras inferiores: nódulos seccionados longitudinalmente 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.)

los sempre verdes podem ser funcionais. Portanto, a simples presença de nódulos não significa que o nitrogênio esteja sendo fixado e/ou suprindo toda a demanda do hospedeiro.

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

A nitrogenase pode ser oxidada pelo O₂, 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 O₂ 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 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 (pO₂) ótima

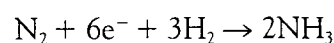
para a fixação de nitrogênio seria aquela na qual a bactéria se desenvolveu. No caso de *Frankia*, a proteção se faz pelo espessamento da parede das vesículas, explicado no início deste capítulo.

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.

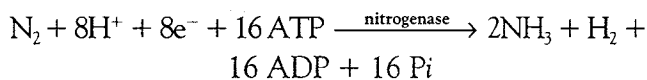
Bioquímica e fisiologia da fixação do nitrogênio

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 (NH₃), em uma reação exotérmica (G = -33,39 KJ mol⁻¹), isto é:



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 simbió-

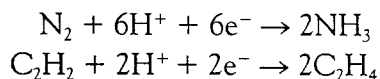
ticos, é formado da queima dos produtos da fotossíntese (ver Cap. 7, Respiração). Nos sistemas conhecidos, a fixação biológica do nitrogênio dá-se segundo a equação:



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.

Parece haver obrigatoriedade na relação de um H_2 formado para cada N_2 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 N_2 a 2NH_3 . Por-

*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_2O óxido nitroso	$\text{N}_2, \text{H}_2\text{O}$	
C_2H_2 (acetileno)	C_2H_4 (etileno)	
2H^+ (íon hidrogênio)	H_2	
HCN	CH_4 (metano), NH_3	
CH_3CN (metilisocianida)	$\text{C}_2\text{H}_6, \text{CH}_3\text{NH}_2$ (metilamina), NH_3	
H_2NCN (cianamida)	C_3H_6 (ciclopropano), NH_3	
C_3H_4 (ciclopropeno)	C_3H_6	

tanto, cada 3 moles de acetileno reduzidos pela nitrogenase correspondem a 1 mol de N_2 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 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 oxido-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 N_2 , formando NH_3 . 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 N_2 e para os prótons com a produção de duas moléculas de NH_3 e uma de H_2 (Fig. 3.9).

Tão logo a amônia é formada, ela é imediatamente 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. 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).

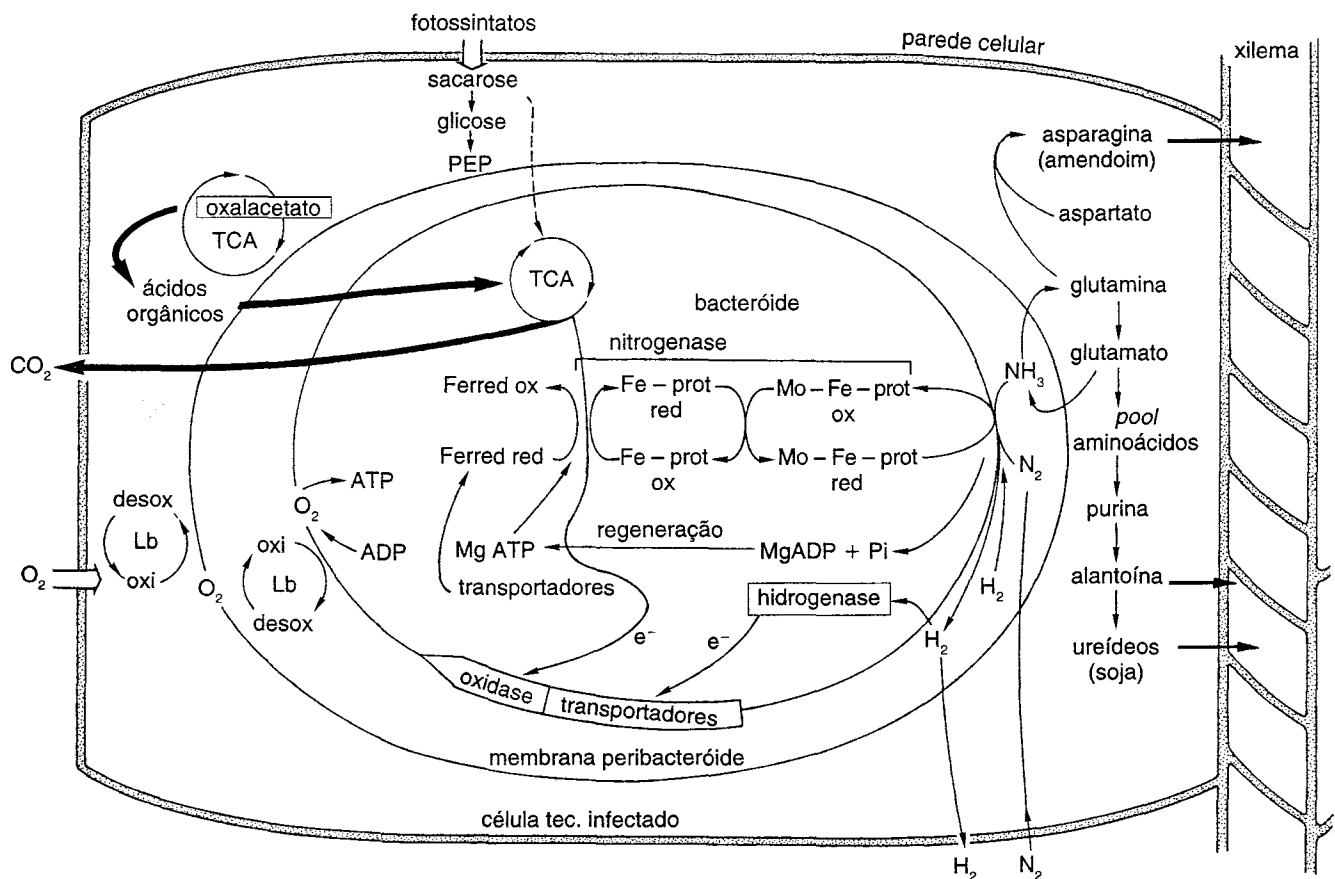


Fig. 3.9 Representação do processo da fixação do nitrogênio que ocorre no interior de uma célula infectada. A nitrogenase está representada pelas duas proteínas: Fe-proteína e Mo-Fe-proteína, nas formas oxidada (ox) e reduzida (red). O esquema representa os processos que ocorrem no citossol da célula do hospedeiro (retângulo), no interior do simbiossomo (círculo maior) e no bacteróide (círculo menor). Lb- leg-hemoglobina, Ferred- ferredoxina, TCA- ciclo dos ácidos tricarboxílicos, PEP- fosfoenolpiruvato. (Bergensen, 1982, modificado.)

Sob condições normais, ocorre também a produção de H_2 a partir da redução do H^+ existente no citossol da célula infectada. Esse processo redutor acaba competindo com o próprio N_2 pelo recebimento de elétrons oriundos da atividade da nitrogenase. Dessa forma, para a produção de H_2 , 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 H_2 a H_2O antes que ele escape, regenerando elétrons que poderão ser utilizados na redução do N_2 .

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 NO_3^- ou 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 nitrogê-

nio, 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, Kushiya 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.
- 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.
- 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 muellbergianus* 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.

Metabolismo do Nitrogênio

Ladaslaw 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 nucleicos, 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.

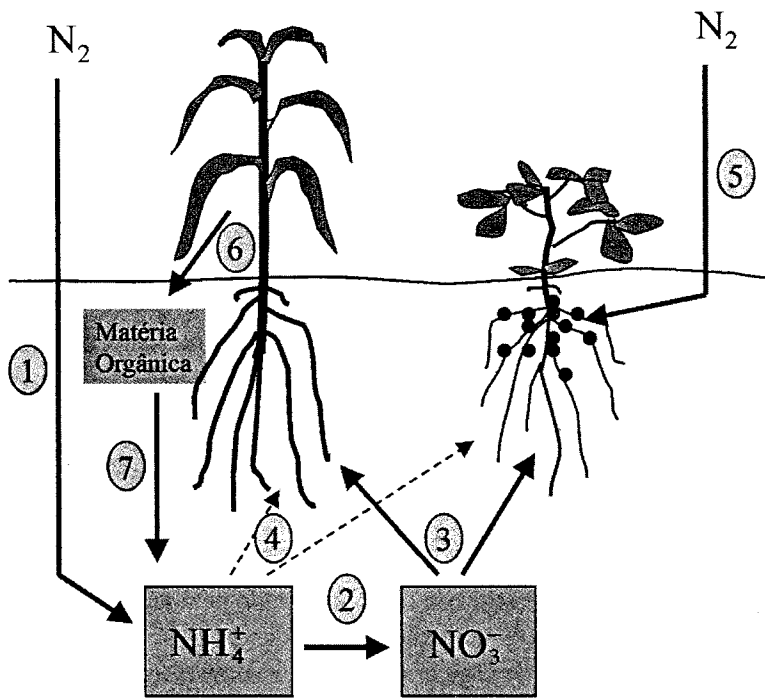


Fig. 4.1 A inter-relação das principais fontes de N para plantas, representadas por uma gramínea e uma leguminosa nodulada.

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).

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 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.

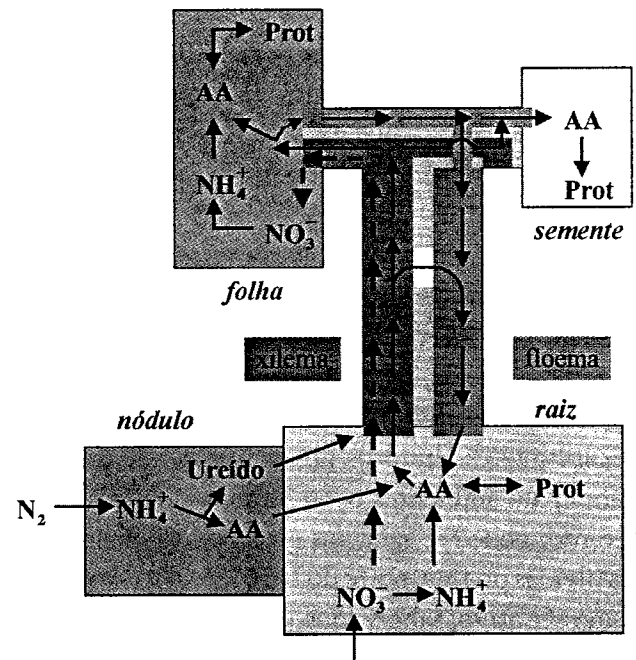


Fig. 4.2 Inter-relação dos processos de assimilação e transporte de N na planta. Observe a transferência de aminoácidos do xilema para o floema e a consequente reciclagem de aminoácidos entre raiz e parte aérea.

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).

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 *redutase do nitrato*

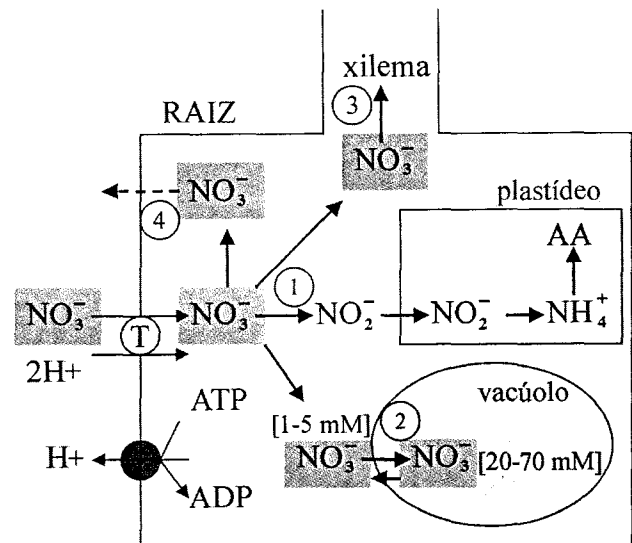


Fig. 4.3 Destino do NO_3^- absorvido pela raiz.

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

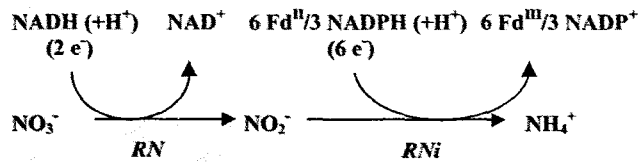
T = proteína transportadora de NO_3^-

(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 *redutase 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 mole-

cular 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 cofator é interessante pelo fato de a RN ser uma das poucas proteínas conhecidas em plantas que contém 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 a nível de transcrição (indução) e 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

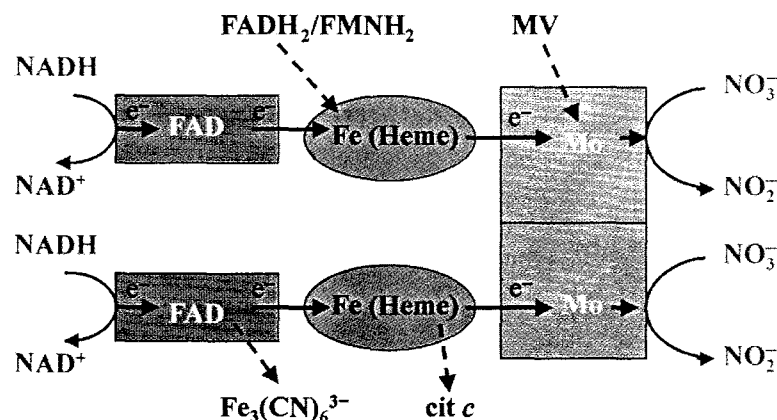


Fig. 4.4 Modelo esquematizado da enzima redutase do nitrato, mostrando as duas subunidades, cada uma composta de 3 entidades com co-fatores distintos: uma flavoproteína (FAD), um citocromo b_{557} (Heme) e um complexo proteína-molibdênio. O fluxo de elétrons de NADH até o NO_3^- via FAD, grupo heme e 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 metilviologênio (MV – um doador de elétrons artificial) até o NO_3^- via molibdênio. Essas reações parciais são freqüentemente usadas em pesquisas para determinar quais regiões da enzima são comprometidas na presença de inibidores da enzima.

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.

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):

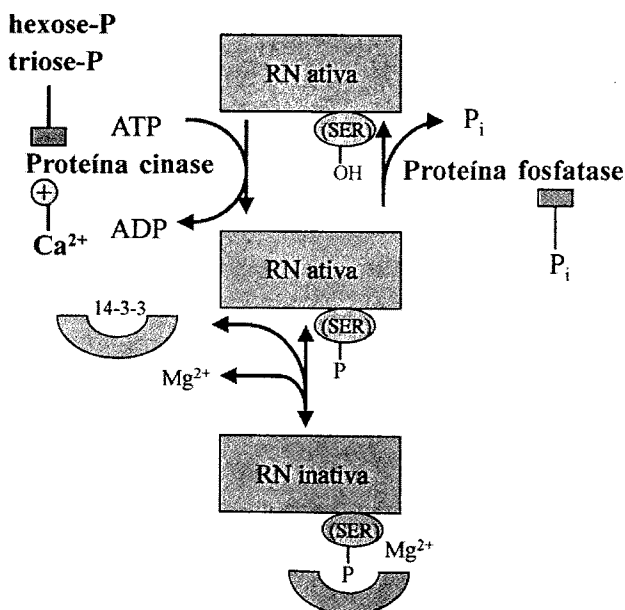


Fig. 4.5 Regulação pós-tradução da enzima redutase do nitrato. Proteína cinase: estimulada por Ca^{2+} ; inibida por açúcares fosforilados (obs.: teores aumentados pela luz via fotossíntese). Proteína fosfatase: inibida por fosfato inorgânico. A proteína 14-3-3 e Mg^{2+} ligam-se com a forma fosforilada 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 fosfato 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 siro-heme (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 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 NO_3^- , muitas, talvez a maioria, vivem em ambientes onde a disponibilidade do NO_3^- 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 NO_3^-

A eficiência do processo de assimilação do NO_3^- é maior na folha. Na raiz ou em outros tecidos não-verdes, a redução do NO_3^- e assimilação de NH_4^+ 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 fornecidos 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 C_4 , nas quais a saturação da fotossíntese pela luz é mais difícil, a competição entre a assimilação do NO_3^- e do gás carbônico pela energia fotoquímica é evitada de outra maneira. As enzimas da assimilação do NO_3^- 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 NO_3^- 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).

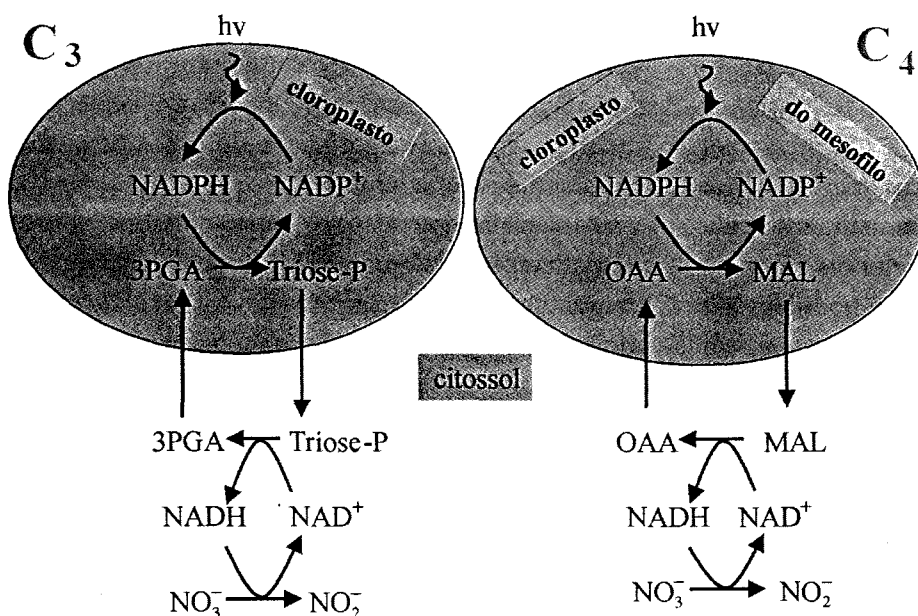
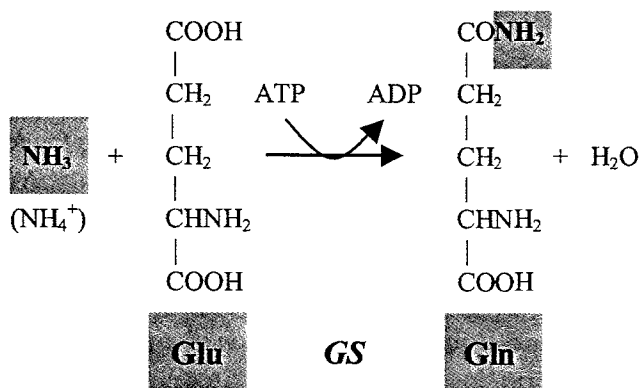


Fig. 4.6 Fonte de poder redutor para a redutase do nitrato em folhas. Em plantas C_3 , elétrons gerados nas reações fotoquímicas são transferidos do cloroplasto para o citossol, principalmente via 3-fosfoglicerato/triose-P. Em plantas C_4 , onde a redução do nitrato é restrita às células do mesofilo, oxaloacetato/malato desempenha o mesmo papel, embora o sistema 3-fosfoglicerato/triose-P também possa funcionar em paralelo.

ASSIMILAÇÃO DE NH_4^+ E O CICLO DA SINTASE DO GLUTAMATO

A natureza prejudicial do NH_4^+ 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 NH_4^+ . A enzima responsável é a *sintetase da glutamina* (GS), que catalisa a união do NH_4^+ com o ácido glutâmico para formar glutamina:

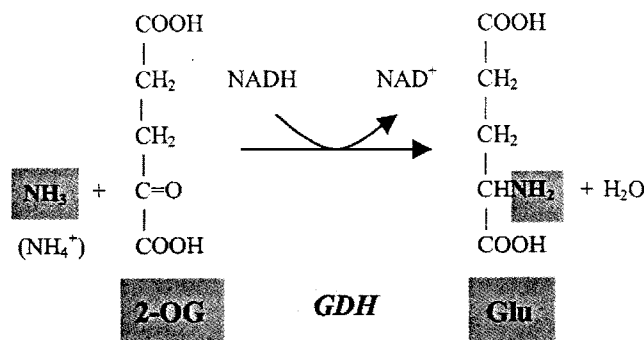


Reação catalisada pela enzima *sintetase da glutamina* (GS), encontrada na maioria dos tecidos das plantas, embora com grande variação de atividade. A nível subcelular, ocorre tanto no citossol como em plastídeos. É constituída de 8 subunidades e tem massa molecular de 300–370 kDa, dependendo da espécie. São encontradas duas isoformas: a GS_1 , localizada no citossol e a forma predominante nas raízes, e GS_2 , localizada no cloroplasto e a forma predominante nas folhas. As subunidades de GS_1 e GS_2 são sintetizadas a partir de genes distintos. Nas folhas, a GS_2 é a maior responsável pela assimilação de NH_4^+ , tanto proveniente da redução de NO_3^- como da fotorrespiração.

A eficiência desse processo é muito superior à taxa de produção de NH_4^+ formada principalmente pela redução de NO_3^- e, nas folhas de plantas C3, pela fotorrespiração, cuja taxa de produção pode superar a redução do NO_3^- em 10 vezes. Dessa forma, em condições normais, o NH_4^+ é mantido em concentrações baixas nos tecidos vegetais.

Embora o papel de assimilar NH_4^+ tenha sido atribuído à GS, ela não é a única enzima capaz de catalisar a incorporação de NH_4^+ em forma orgânica. A *desidrogenase do glutamato* (GDH) catalisa uma reação (reversível) entre 2-oxoglutarato, NH_4^+ e

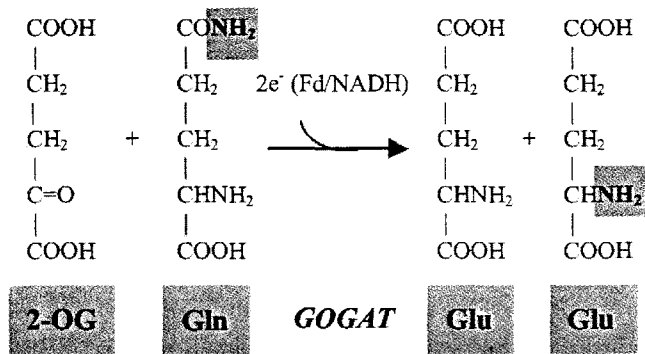
NADH, formando assim o aminoácido ácido glutâmico:



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 NH_4^+ produzido na fotorrespiração. O assunto é, porém, bastante controverso. GDH é ativada por Ca^{2+} e induzida por NH_4^+ . A estrutura molecular da enzima é constituída de 6 subunidades com M_r de 42,5 kDa e 43 kDa.

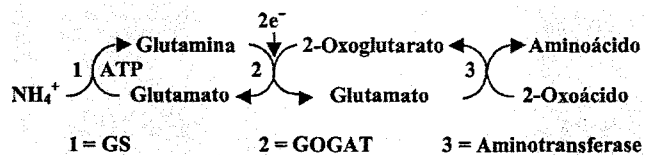
Entretanto, a GDH não é muito eficiente na direção de assimilação, pois o K_m para NH_4^+ é alto, o que significa que a reação nessa direção só é eficiente na presença de concentrações elevadas desse íon. Apesar disso, durante muito tempo pensou-se que a GDH, e não a GS, desempenhava a função de assimilar NH_4^+ 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-oxo-glutarato (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:

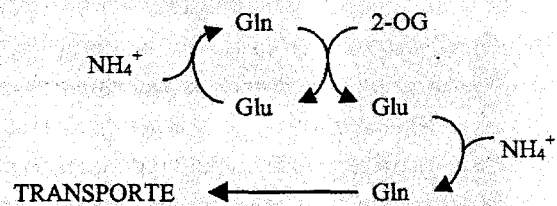


Nas folhas, esse processo ocorre dentro do cloroplasto, onde a enzima GOGAT é específica para ferredoxina como doador de elétrons. Embora atividade de GS seja também encontrada fora do cloroplasto (GS₁), ela é relativamente muito baixa comparativamente à enzima do cloroplasto (GS₂). A síntese de muitos 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 NH₄⁺, 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 afinida-

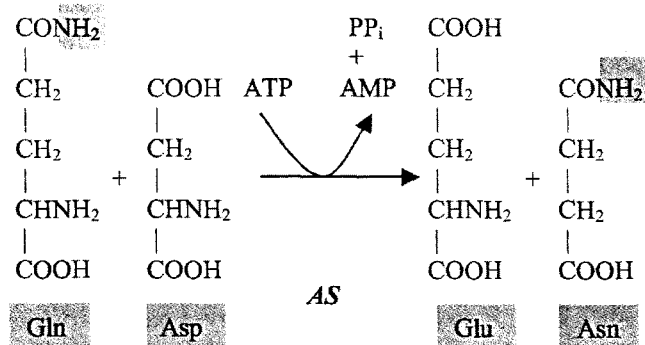
de pelo NH₄⁺ possa ser superada, a GDH certamente desempenha uma função na degradação de aminoácidos. Dois motivos apontam para isso: em primeiro lugar, a reação catalisada por essa enzima é plenamente reversível; em segundo, a sua atividade costuma ser mais alta em tecidos senescentes, em que a mobilização 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 NH₄⁺ pela GDH. Esse NH₄⁺ 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 NO₃⁻, 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 NH₄⁺ em glutamina para fins de transporte acabaria em pouco tempo com o ácido glutâmico endógeno. Entretanto, para cada NH₄⁺ 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:

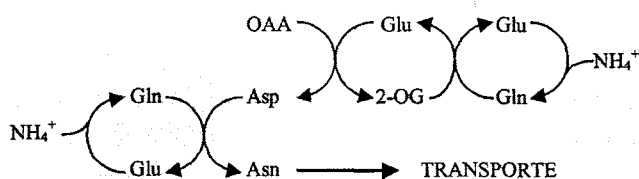


Nessa situação, os dois sistemas devem funcionar simultaneamente. Quando há formação de asparagina,

a reação envolve a glutamina e o ácido aspártico, catalisada pela *sintetase da asparagina (AS)*:



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



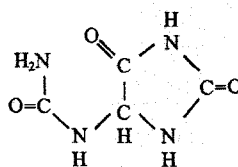
Portanto, o sistema GS/GOGAT tem duas finalidades principais nos tecidos de assimilação primária: fornecer o N para a formação de todos os aminoácidos necessários para a síntese de proteína no próprio tecido, suprimindo assim a demanda local, e a produção de glutamato e aspartato para a formação das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

TRANSPORTE DO N

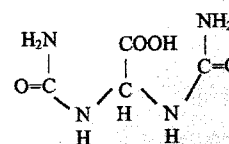
O transporte do N pela planta é um importante elo entre os sítios de assimilação e os drenos. Esse transporte a longa distância envolve tanto o xilema como o floema. O transporte pelo xilema basicamente faz a ligação entre a raiz e a folha, pois depende da transpiração, sendo assim responsável pelo escoamento 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 leguminosas da tribo Phaseoleae (por exemplo, soja, feijão, feijão-de-corda), nas quais predominam os ureídios, sendo responsáveis por 60 a 90% do N transportado no xilema. Os ureídios alantoína 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 ureídios no xilema pode ser usado como indicador do grau de fixação do N nessas espécies.



Alantoína



Ácido alantóico

Os ureídios alantoína 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 ureídios, o aminoácido asparagina geralmente aparece em segundo lugar e predomina no xilema nas plantas não-noduladas.

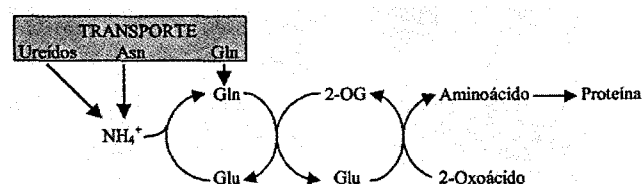
São conhecidas outras formas características de transporte de N na planta. Por exemplo, a citrulina (inclusive produto da fixação de N_2) em *Alnus* e *Casuarina* e a arginina em muitas árvores. Esses dois aminoácidos são caracterizados pela alta relação N:C (citrulina, 3:6, e arginina, 4:6).

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 ureídios 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 ureídios. 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:



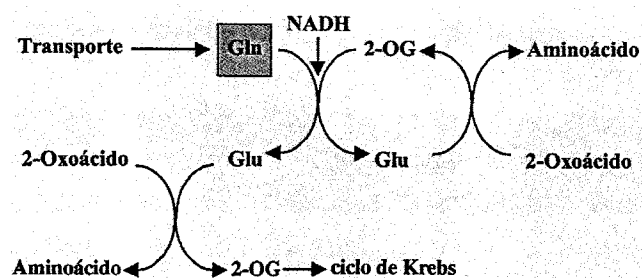
O transporte de N para os frutos é importante para fornecer os aminoácidos necessários para a síntese de proteínas de reserva armazenadas na semente, para uso como fonte de N durante a germinação. Muitas

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 substâncias 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).

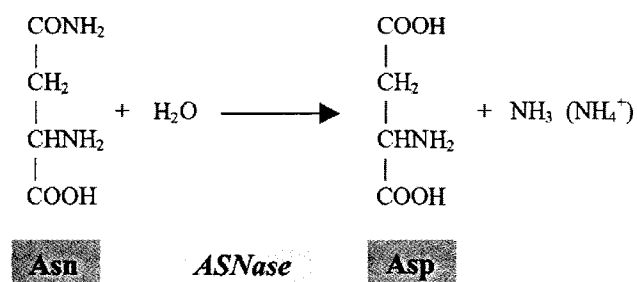
O metabolismo da glutamina nos sítios de consumo segue um caminho muito próximo àquele encontrado nos sítios de assimilação. A glutamina é primeiro metabolizada via GOGAT, com a formação de duas moléculas de glutamato. Ao contrário do processo de assimilação, ambas as moléculas de glutamato participam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



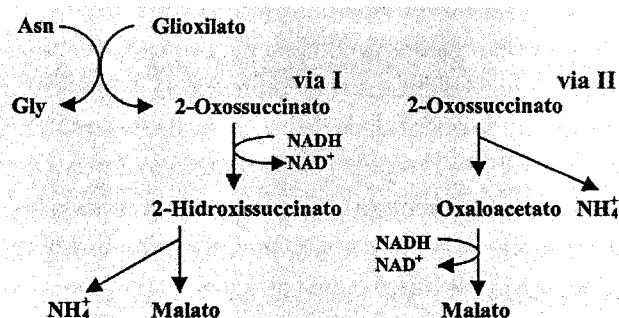
Dessa forma, 1 molécula de glutamina assegura a reciclagem de 1 molécula de oxoglutarato necessário

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.

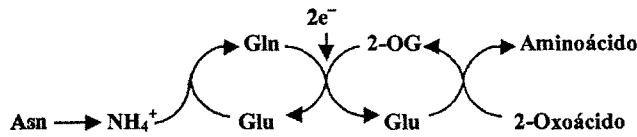
No caso de asparagina, a forma inicial do seu metabolismo varia de acordo com o tecido. Duas vias são conhecidas, uma envolvendo a enzima *asparaginase* e outra a enzima *aminotransferase da asparagina*. A primeira é encontrada em sementes imaturas e folhas na fase inicial de expansão. A reação catalisada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



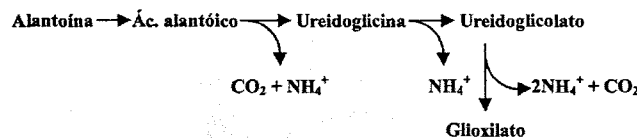
A segunda via, envolvendo a aminotransferase da asparagina, é encontrada principalmente em folhas e tecidos verdes. Essa enzima é também conhecida como aminotransferase de serina:glioxilato, que está envolvida na formação de glicina durante o processo de fotorrespiração. Essa confusão na nomenclatura 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:



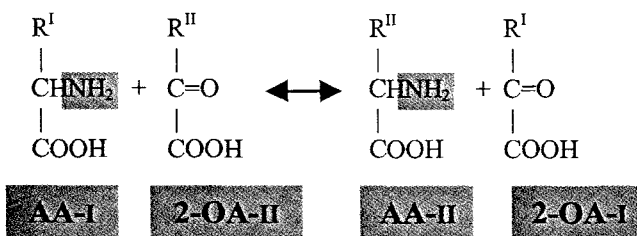
No caso dos ureídios, os quatro átomos de N contidos na molécula são liberados um por um na forma de NH_4^+ :



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:

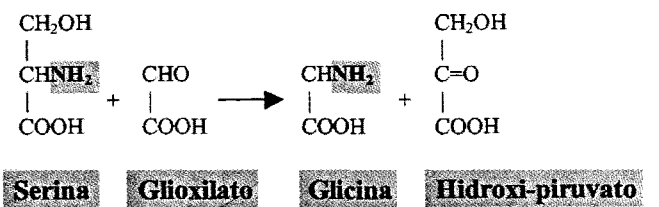


As duas aminotransferases mais bem estudadas em plantas são a *aminotransferase do aspartato* (AspAT) e a *aminotransferase da alanina* (AlaAT). Justamente em função da reversibilidade dessas

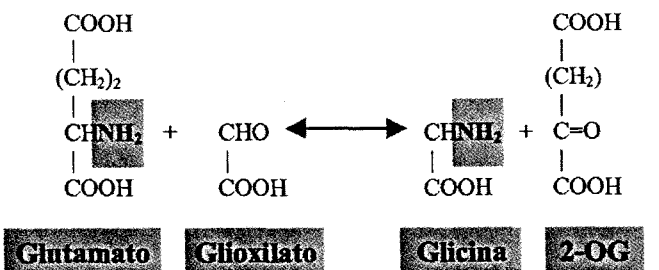
reações, as duas enzimas também são conhecidas como, respectivamente, transaminase de glutamato:oxaloacetato (GOT) e transaminase de glutamato:piruvato (GPT). A maioria dos tecidos vegetais apresentam alta atividade dessas enzimas. As aminotransferases teriam o papel de dar sequência ao sistema GS/GOGAT, 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:glicoxilato, catalisa reação irreversível:



e a outra, a aminotransferase de glutamato:glicoxilato, 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 a seguir (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.

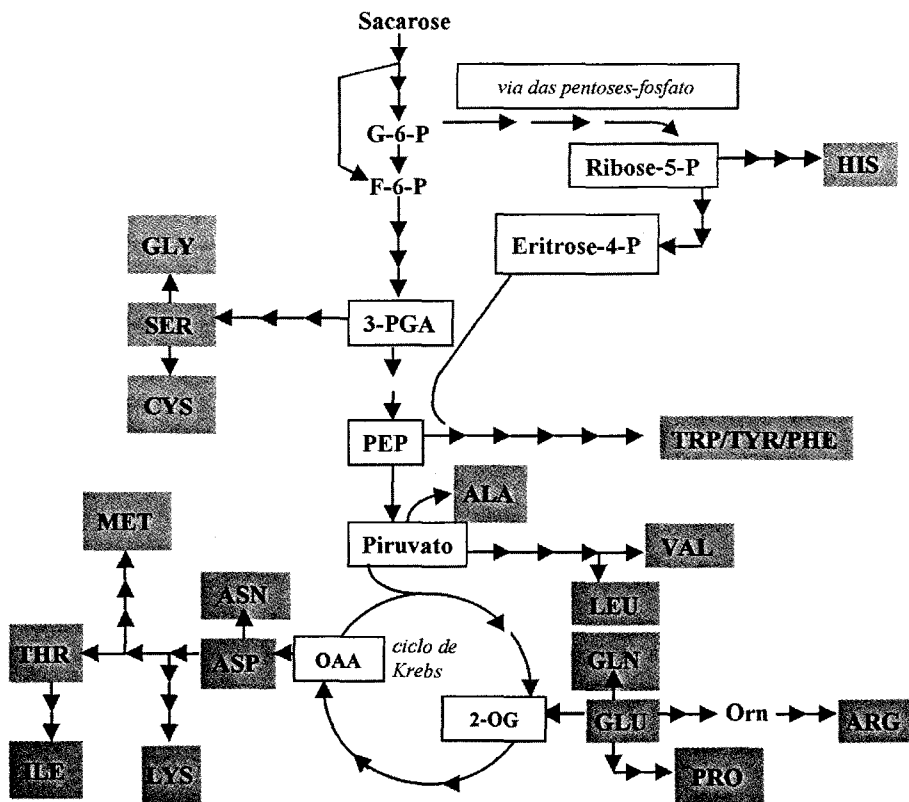


Fig. 4.7 Inter-relação entre as vias de biossíntese dos 20 aminoácidos protéicos e o metabolismo do carbono. Alanina (Ala); arginina (Arg); aspartato (Asp); asparagina (Asn); cisteína (Cys); fenilalanina (Phe); glutamato (Glu); glutamina (Gln); glicina (Gly); histidina (His); isoleucina (Ile); leucina (Leu); lisina (Lys); metionina (Met); prolina (Pro); serina (Ser); treonina (Thr); tirosina (Tyr); triptofano (Trp); valina (Val). orn = ornitina (aminoácido não-protéico).

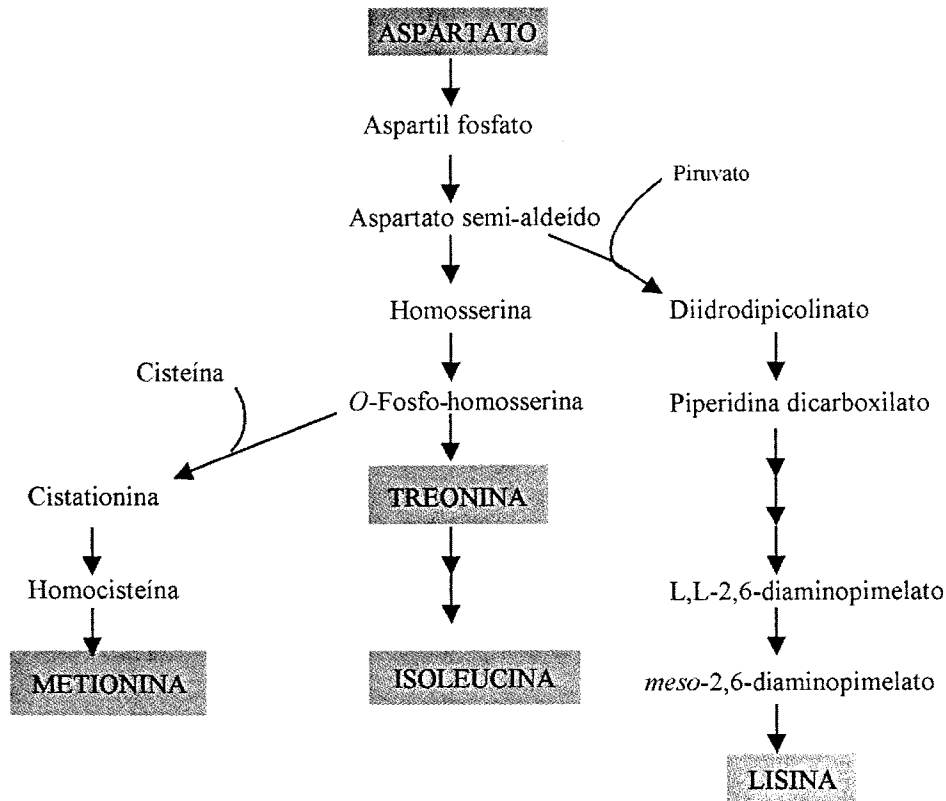


Fig. 4.8 Biossíntese de lisina, treonina, isoleucina e metionina.

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 produ-

zidos; 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):

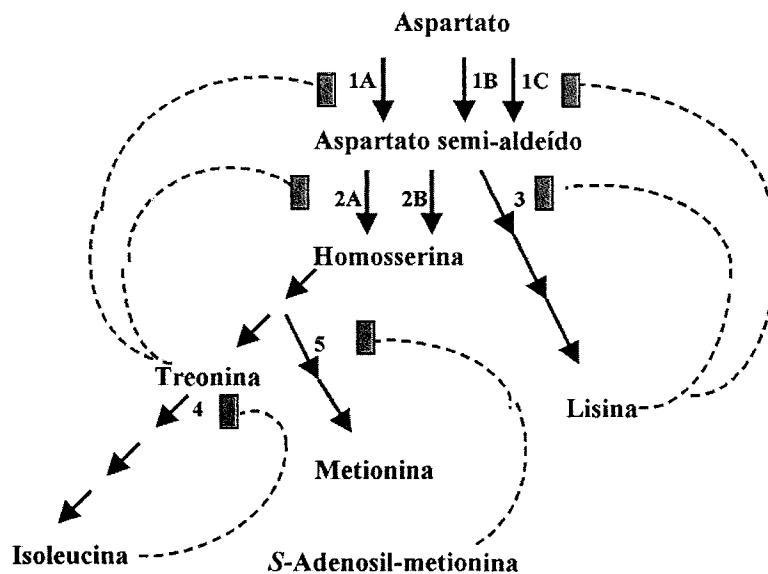


Fig. 4.9 Regulação da biossíntese dos aminoácidos da família do aspartato. Enzimas-chaves: 1. cinase do aspartato (3 isoenzimas: A – sensível à treonina; B e C – sensíveis à lisina); 2. desidrogenase da homoserina (2 isoenzimas: A – sensível à treonina, B – resistente à treonina); 3. sintase do diidropicolinato; 4. desidratase da treonina; 5. cistationina- γ -sintase. Obs.: as isoenzimas cinase do aspartato-A (1A) e desidrogenase da homoserina-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 homoserina, sendo ambas as atividades inibidas por treonina.

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 homoserina*. A outra isoenzima da desidrogenase da homoserina (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 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):

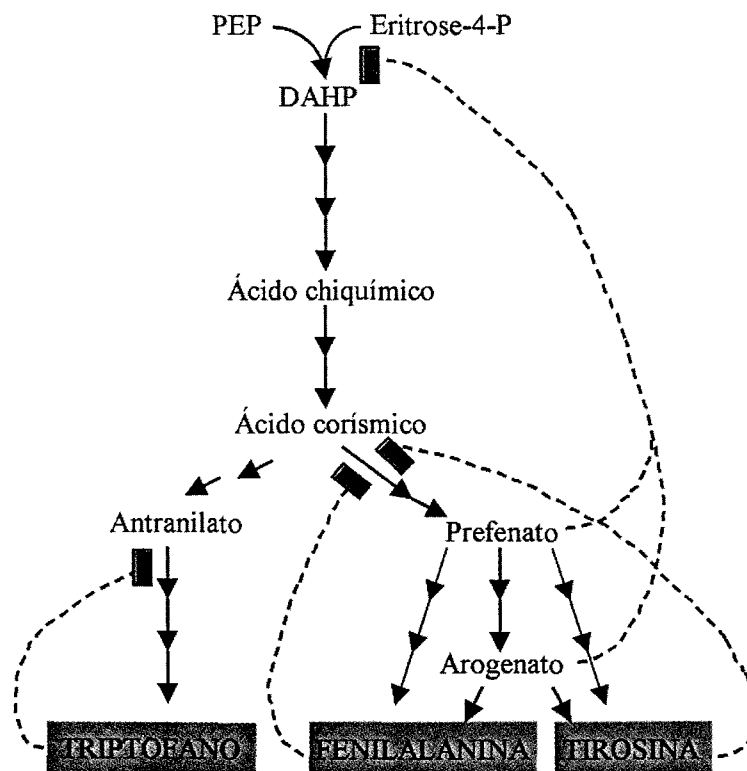


Fig. 4.10 Biossíntese do triptofano, fenilalanina e tirosina (aminoácidos aromáticos).

A regulação da via biossintética em plantas não é bem conhecida. A primeira enzima, a *sintase do 3-desoxi-arabino-heptulosonato* (sintase do DHAP) aparentemente tem duas isoformas, uma inibida pelo prefenato e arogenato, os precursores da fenilalanina e tirosina. Apesar de duas rotas metabólicas para a formação de fenilalanina e tirosina a partir do prefenato, 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 pa-

tógenos, 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 acetilação 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),

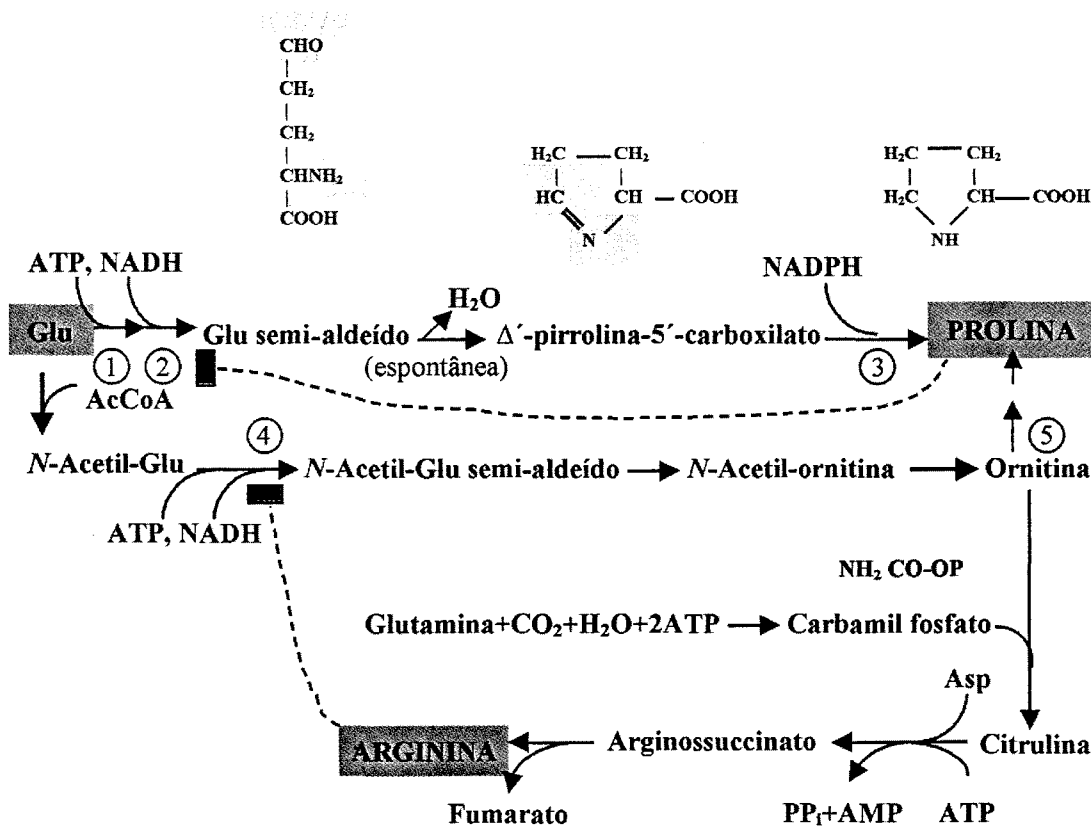


Fig. 4.11 Biossíntese de prolina e arginina.
1. cinase de γ -glutamil; 2. desidrogenase do glutamato semi-aldeído; 3. redutase do P5C; 4. cinase do N-acetil-glutamato; 5. aminotransferase da ornitina.

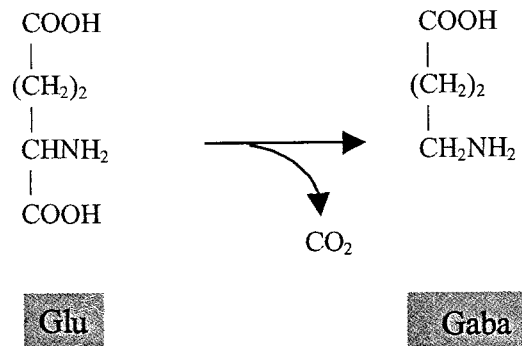
precursora da prolina. A estrutura cíclica é formada pela reação intramolecular (não-enzimática) dos grupos amino e aldeído do glutamato semi-aldeído. Na via dos derivados acetilados, a presença do grupo acetil ligado ao grupo 2-amino impede essa reação interna, e uma estrutura aberta, a ornitina, é 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 introdução 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*.

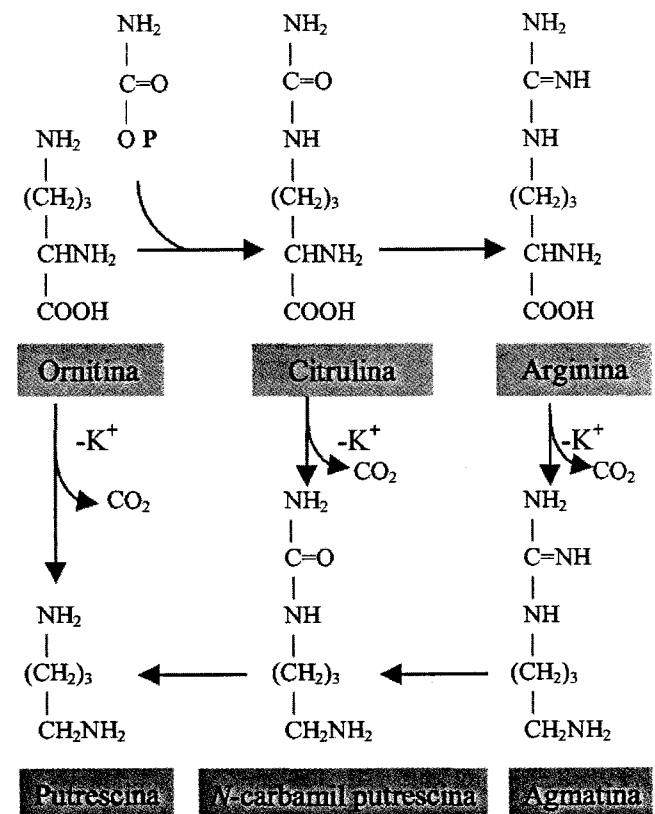
A síntese de prolina tem uma importância especial em plantas, pois está estreitamente relacionada com o potencial hídrico dos tecidos. Plantas em condições de estresse hídrico ou salino apresentam elevados teores de prolina em comparação com plantas em condições normais. Esse fenômeno parece estar relacionado 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 glutama-

to (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).

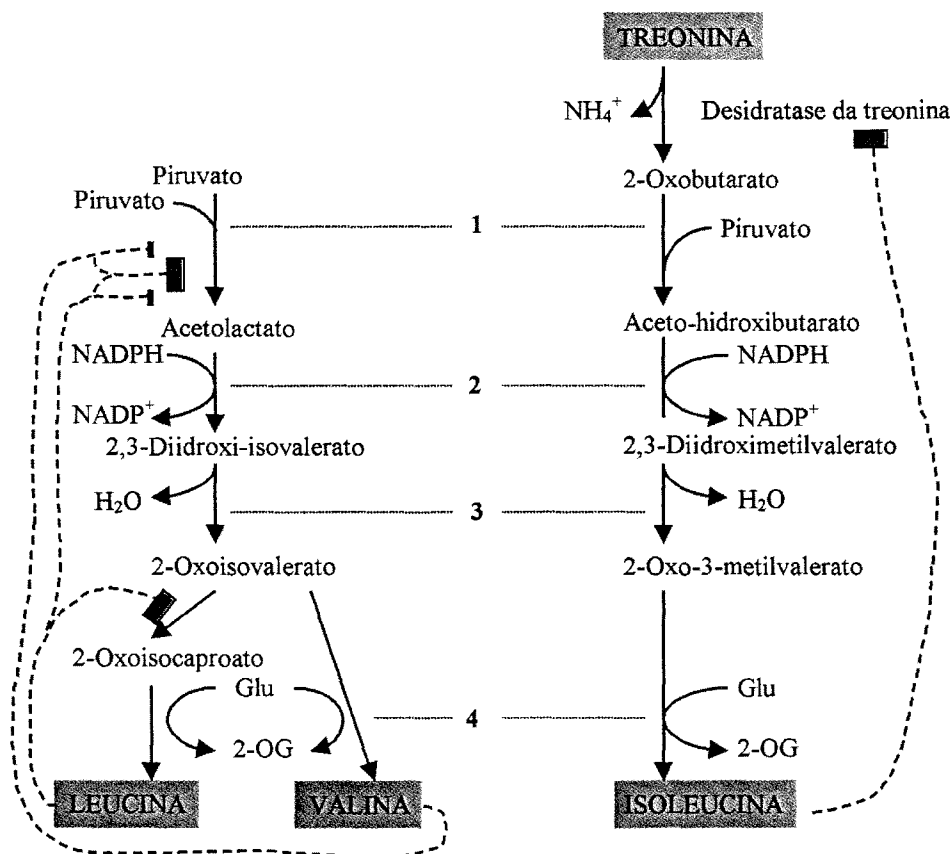


Fig. 4.12 Biossíntese de valina, leucina e isoleucina. As enzimas das reações 1 a 4 são as mesmas para os dois caminhos biossintéticos.

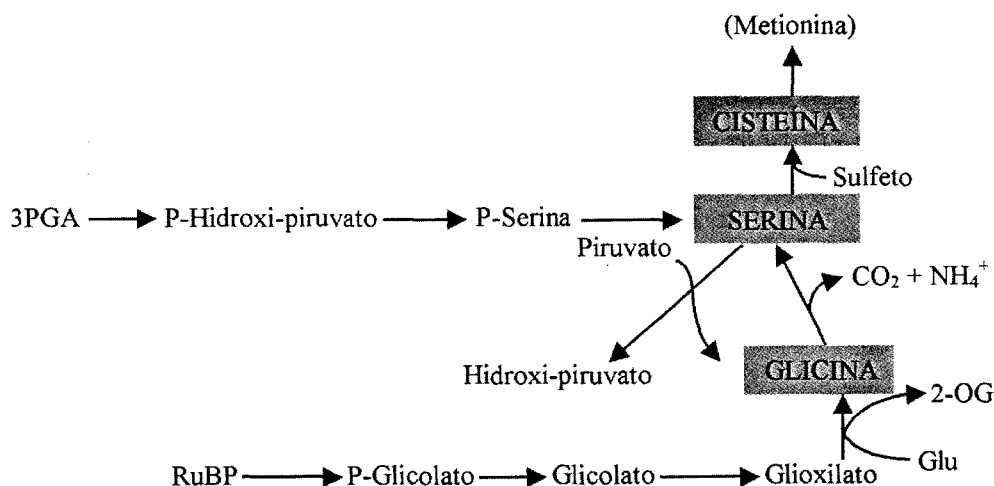


Fig. 4.13 Biossíntese de glicina, serina e cisteína.

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.

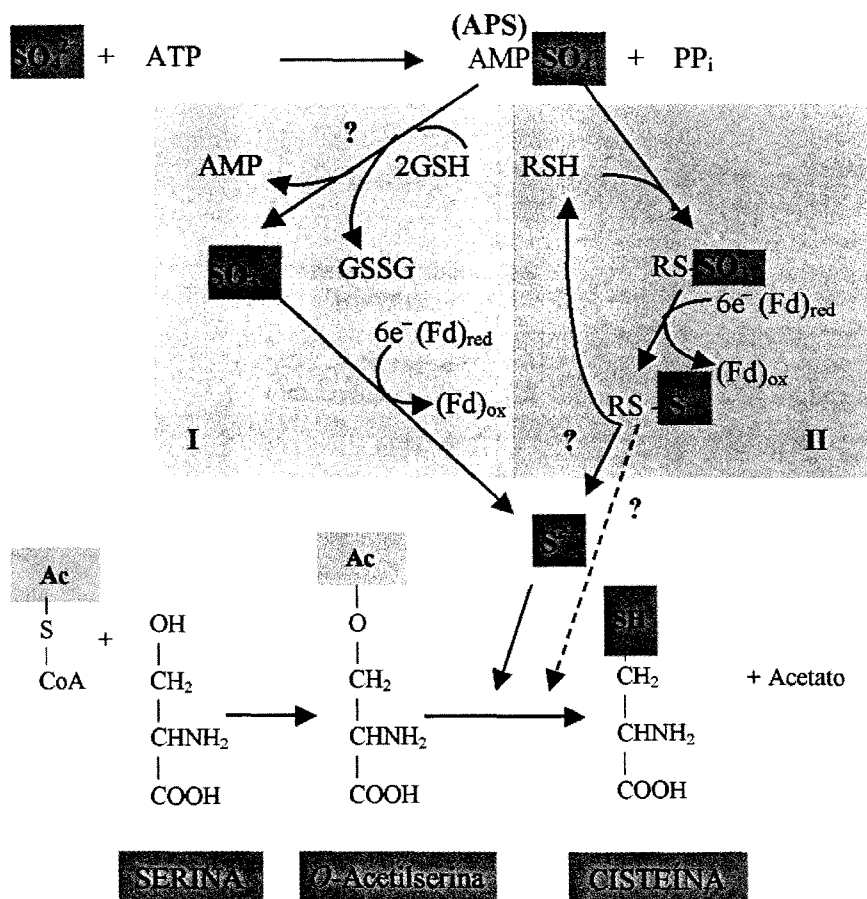


Fig. 4.14 Assimilação do enxofre. As duas hipóteses para a redução de sulfato (SO_4^{2-}) até sulfeto (S^{2-}) estão destacadas por cores diferentes.

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 glutatona (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.

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 CO₂ e a H₂O. 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) 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 armaze-

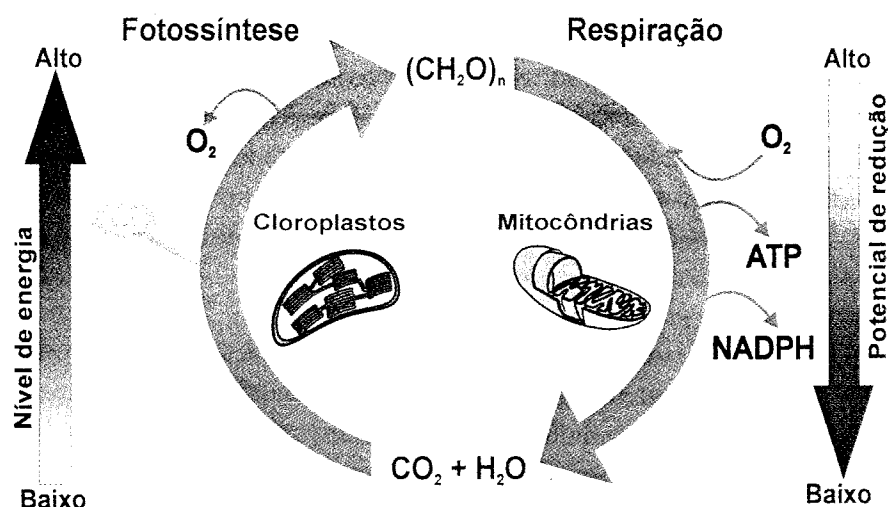


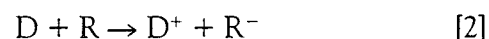
Fig. 5.1 Respiração e fotossíntese são processos biológicos de conversão de energia com vetores termodinamicamente opostos.

nada 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 transformação, 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).

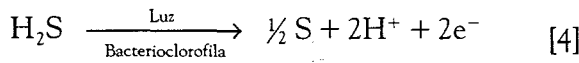
FOTOSÍNTESE: UM PROCESSO DE OXIDAÇÃO-REDUÇÃO

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* sequenciais – 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:

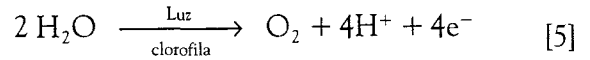


As reações de oxidação e redução são de fundamental importância para que possamos compreender os mecanismos fotossintéticos. A reação primária da fotossíntese, por exemplo, é uma reação de transferência de elétrons entre uma forma especial de clorofila e uma molécula receptora específica (Fig. 5.2). 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 fotoxidação. 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

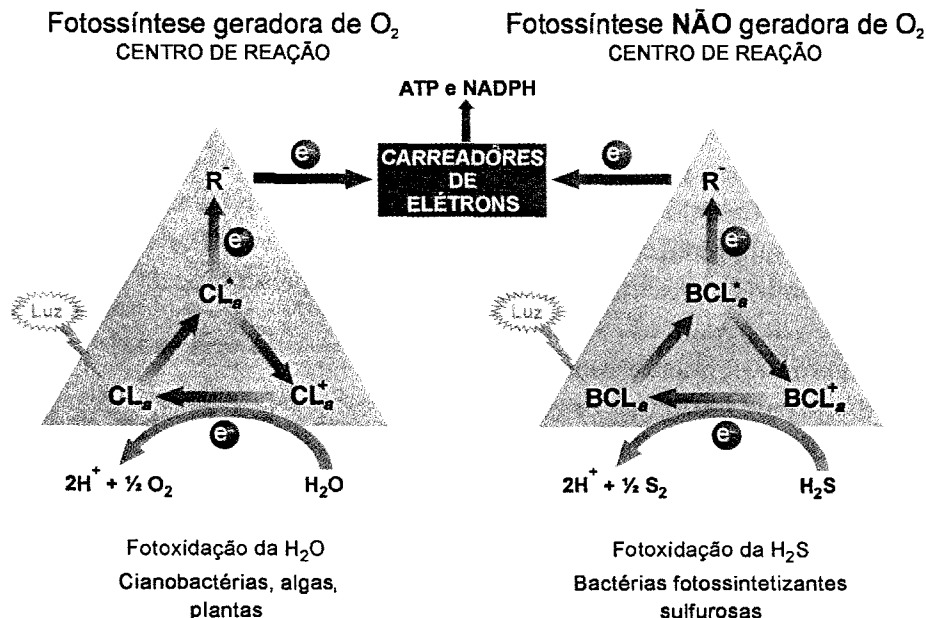


Fig. 5.2 A reação primária da fotossíntese é uma reação de oxirredução entre moléculas especiais de clorofila *a* (CL_a) ou bacterioclorofila *a* (BCL_a) e moléculas receptoras de elétrons (R) que, na seqüência, transferem os elétrons excitados para outros carreadores. Nos organismos fotossintetizantes 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 anaeróbias, os doadores de elétrons podem ser diferentes moléculas orgânicas ou inorgânicas, como o H₂S.

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 ATP e NADPH (*poder redutor*). A etapa seguinte é constituída pelas reações enzimáticas de fixação do CO_2 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 NO_3^- , NH_4^+ 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, são muito mais uma decorrência do tratamento experimental dado à fotossíntese do que uma realidade biológica. Em con-

dições 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

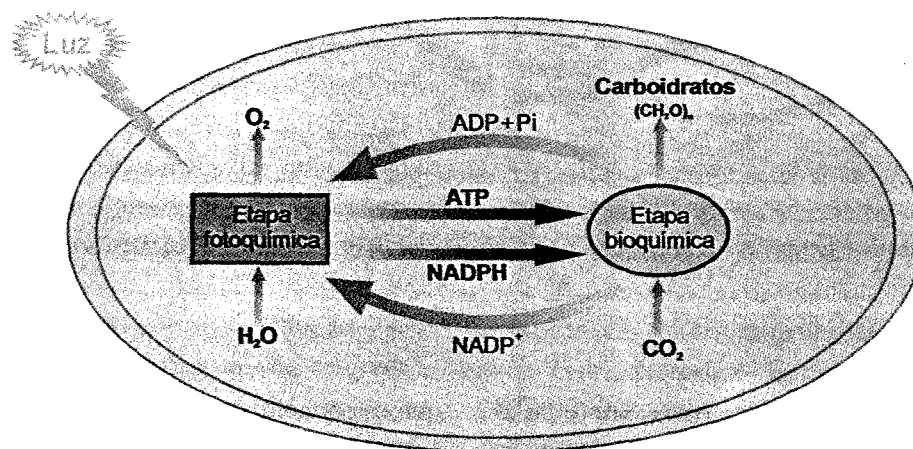


Fig. 5.3 A fotossíntese é um processo complexo que ocorre em duas etapas interdependentes. Na etapa fotoquímica, a energia dos fótons de luz é transformada em ATP e NADPH nas membranas dos tilacóides. Essas moléculas ricas em energia são necessárias para colocar em movimento as reações bioquímicas que transformam o CO_2 em carboidratos no estroma dos cloroplastos.

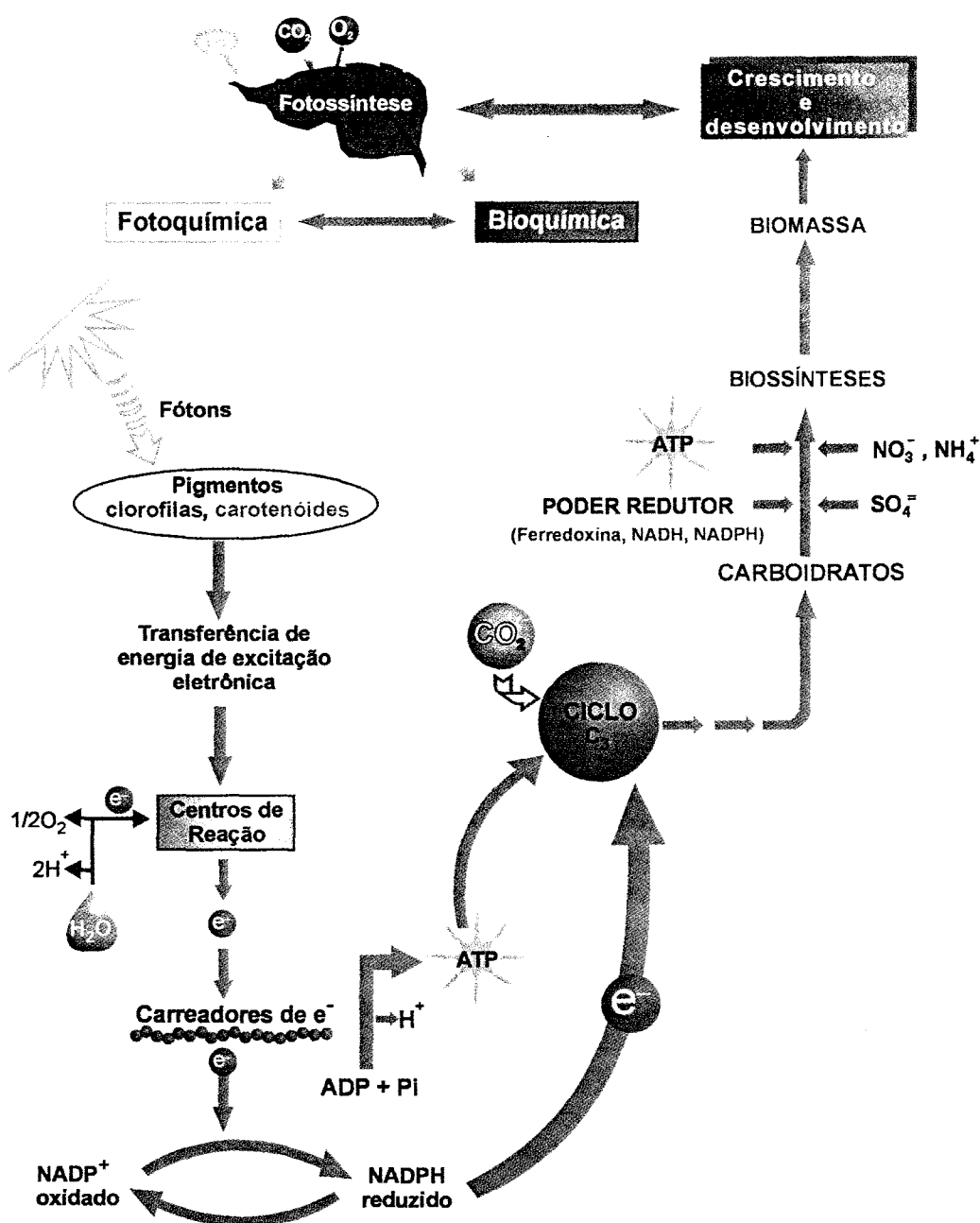


Fig. 5.4 Principais etapas da fotossíntese e sua relação com a geração de biomassa vegetal. O esquema caracteriza, de modo simplificado e genérico, a conversão de energia luminosa em energia eletroquímica, a interação entre as etapas fotoquímica e bioquímica, bem como a relação entre a fotossíntese, o metabolismo e o crescimento das plantas. (Lawlor, 1987, modificado.)

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 estru-

tura 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 FOTOSINTÉTICA

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

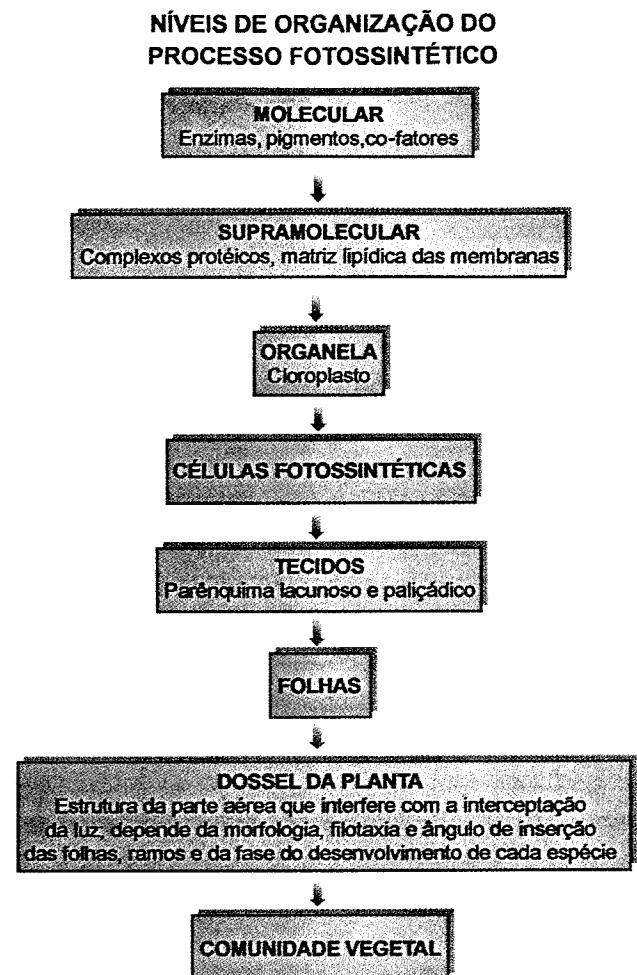


Fig. 5.5 Os componentes estruturais da fotossíntese organizam-se em diferentes níveis. A fotossíntese envolve desde estruturas e processos de dimensão molecular (enzimas, complexos protéicos) até a planta individual integrada a determinada comunidade vegetal (interceptação da radiação fotossinteticamente ativa).

solo, bem como a exportação e a circulação das moléculas orgânicas geradas na fotossíntese no organismo como um todo.

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 supracitados, 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 cé-

lulas, 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 epidérmicas, podendo organizar-se em camadas colunares, geralmente formadas por uma a três camadas de células, denominadas de *parênquima paliádico*, e em camadas de células, com formato irregular, que se dispõem deixando enormes espaços aéreos entre si, denominadas de *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 cuja distribuição e quantidade dependem da espécie e das condições ambientais.

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

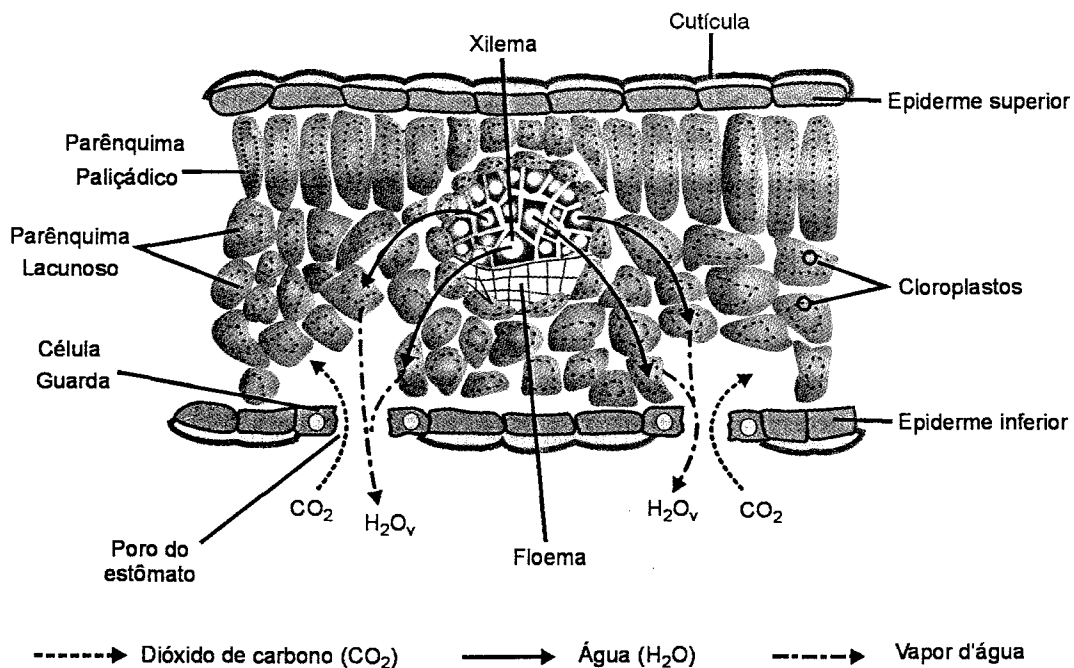


Fig. 5.6 Esquema de corte transversal de uma folha típica de espécie C_4 mostrando a sua estrutura anatômica e as trocas gasosas que influenciam a fotossíntese e o balanço hídrico das plantas. O gás dióxido de carbono (CO_2) e o vapor d'água (H_2O_v) difundem-se, através da abertura dos estômatos, em sentidos opostos.

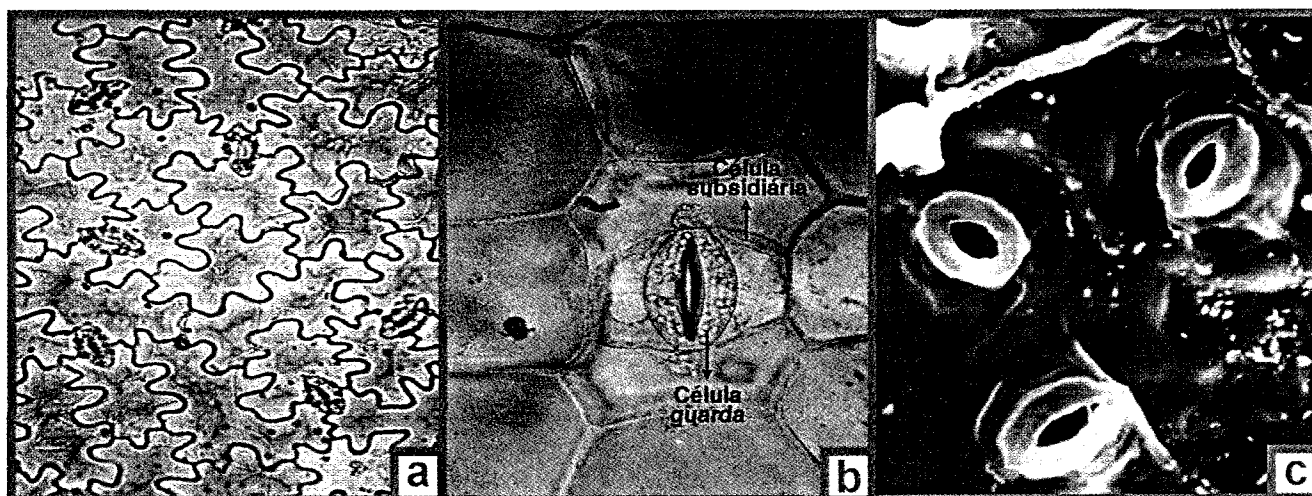


Fig. 5.7 (a) Epiderme de *Catharathus roseus* mostrando vários estômatos (10 \times); (b) detalhe de um estômato evidenciando a presença de cloroplastos nas células guarda (20 \times); (c) epiderme abaxial de *Gomidesia spectabilis*, vista em microscopia eletrônica de varredura, com estômatos em destaque (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.)

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

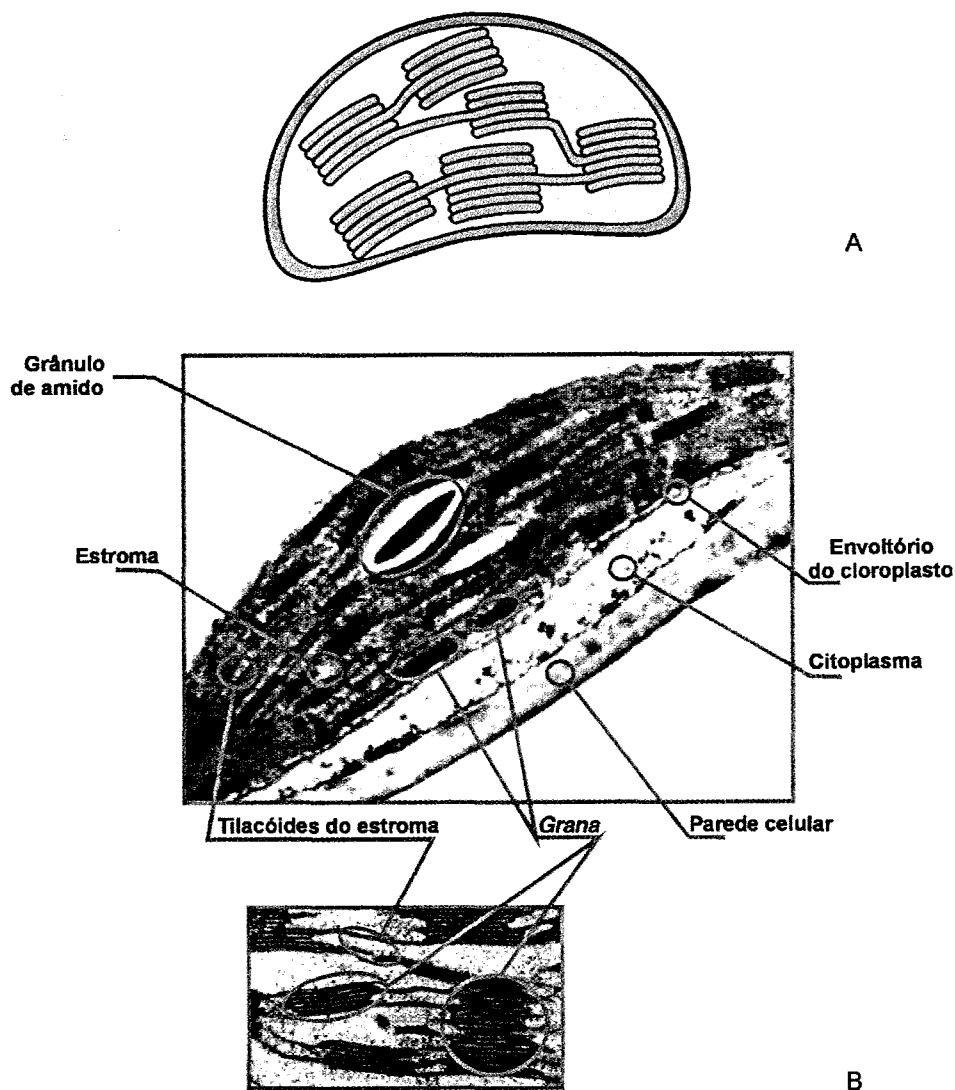


Fig. 5.8 (A) Esquema da ultra-estrutura de um cloroplasto mostrando a organização do seu sistema de membranas. As membranas internas são denominadas tilacóides, apresentando regiões empilhadas (tilacóides dos *grana*) e não empilhadas (tilacóides do estroma); (B) eletromicrografia de transmissão de cloroplastos evidenciando a sua ultra-estrutura (37.500 \times). (Fotografia gentilmente cedida pela Prof^a Maria Emília M. Estellita.)

células meristemáticas. Nas plantas superiores, a diferenciação de cloroplastos, a partir dos proplastídeos, só ocorre em presença de luz. Os genes que controlam o desenvolvimento 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 estro-

ma, 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 ultraestrutura 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 críti-

cas sobre o meio ambiente. Através de diferentes sensores (moléculas especiais denominadas **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 *freqüência* – 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 ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). A freqüência 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 ($3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$), 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),

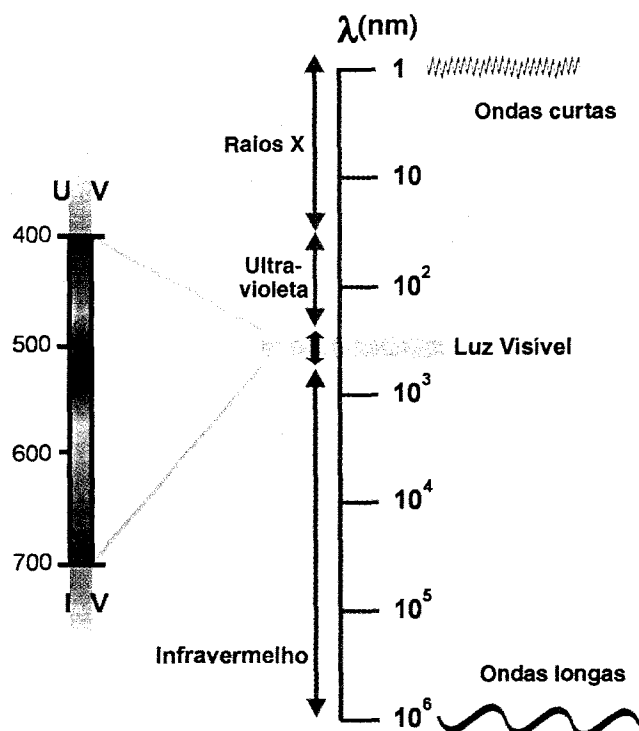


Fig. 5.9 O espectro eletromagnético. A radiação visível (luz) representa uma fração muito pequena do espectro eletromagnético emitido pelo sol.

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 (Eq), está relacio-

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

nada 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 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 impor-

tantes por aqueceram 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, possivelmente, 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

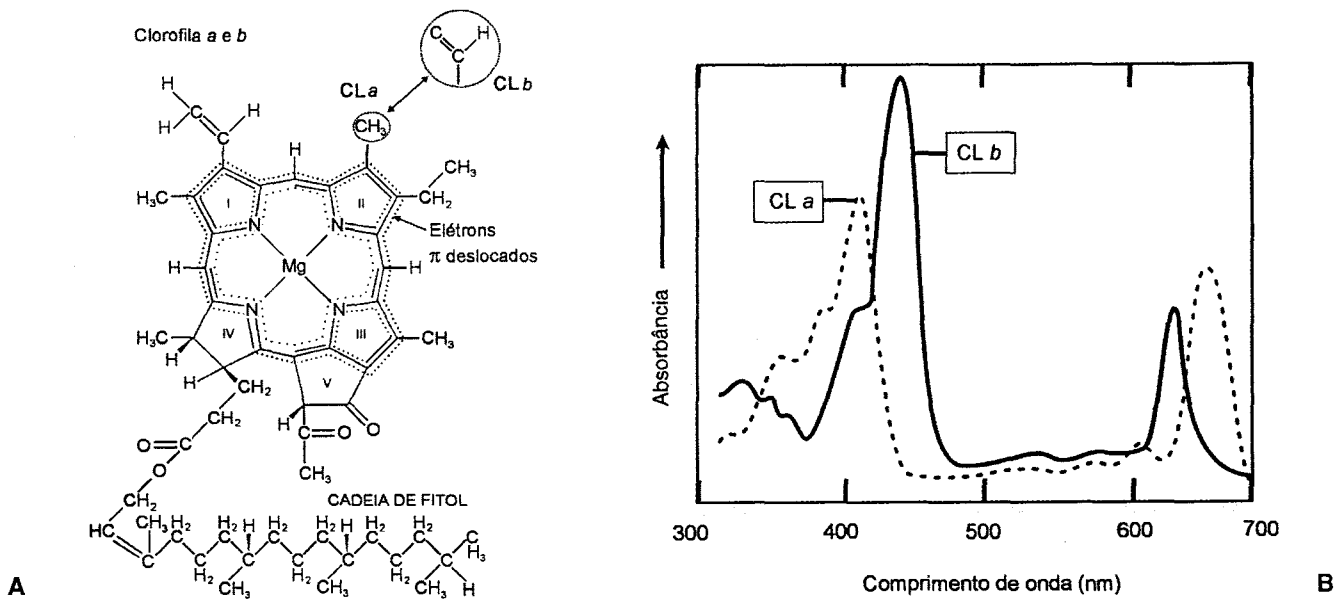


Fig. 5.10 (A) Estrutura das clorofilas destacando as ligações conjugadas do anel de porfirina contendo uma molécula de Mg. A alternância entre as ligações simples e duplas no anel de porfirina gera muitos elétrons π deslocados, os quais participam da absorção da luz. O anel de porfirina liga-se a uma 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.

(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 singlete* (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 singlete*

(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

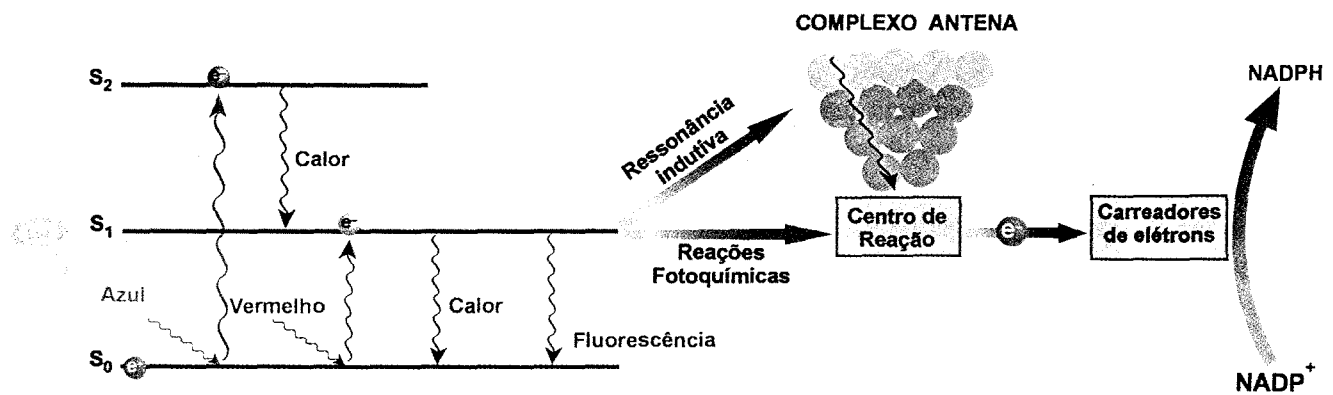


Fig. 5.11 Modelo esquemático, simplificado, dos níveis de energia da clorofila excitada pela absorção de luz monocromática e o destino da energia de excitação eletrônica. A energia de excitação eletrônica pode ser dissipada de 4 formas: calor, emissão de luz (fluorescência), transferência de energia 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).

tratando das clorofilas, o pico de emissão de luz fluorescente situa-se na banda do vermelho, independentemente do comprimento de onda 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.

2. 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 extre-

mamente importante para que a captação de luz ocorra eficientemente. 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 ($-\text{CH}_3$), ligado ao anel II da porfirina desta última, pelo grupo formila ($-\text{CHO}$; 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

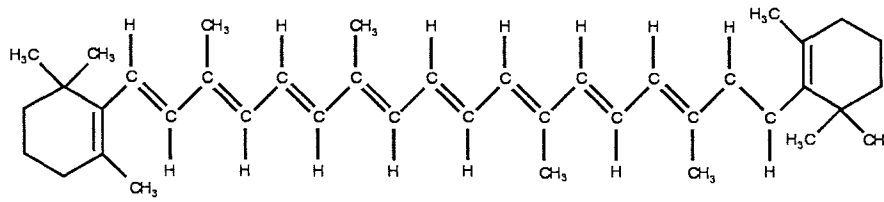
ser facilmente danificadas quando parte da energia absorvida pelas clorofilas não pode ser armazenada no processo fotoquímico. Isso pode acontecer com grande frequência em ambientes intensamente iluminados. As clorofilas excitadas podem reagir com o oxigênio molecular formando espécies ativas de oxigênio (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).

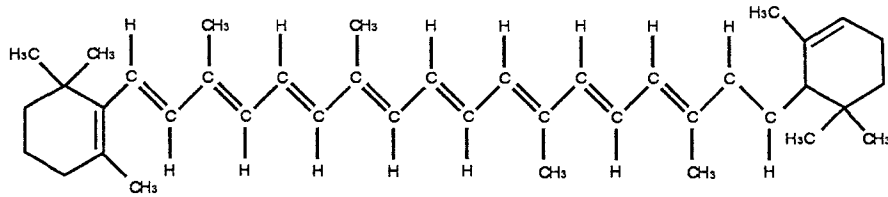
O fluxo fotossintético de elétrons e a fotoxidação da água

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 **reductor 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

A CAROTENOS

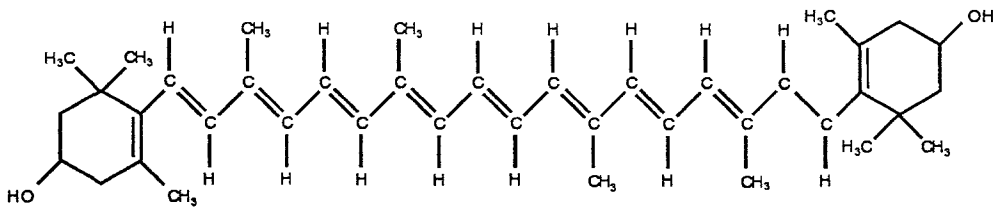


β -Caroteno

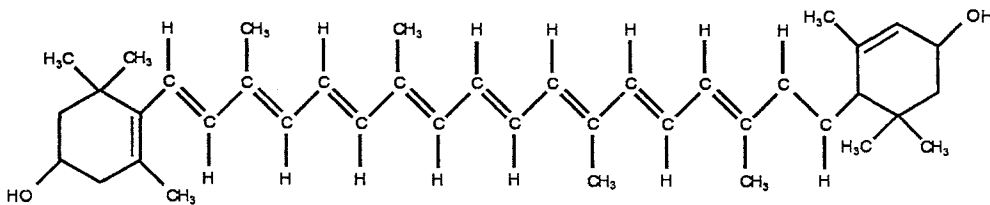


α -Caroteno

XANTOFILAS



Zeaxantina



Luteína

B

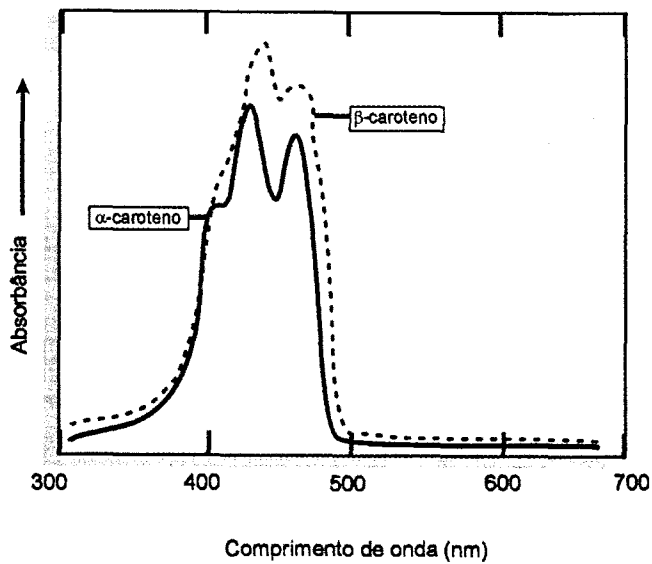


Fig. 5.12 (A) Estrutura de alguns carotenóides. As xantofilas contêm grupos hidroxila ligados à cadeia carbônica constituída de 40 carbonos; (B) espectro de absorção de dois carotenos (α e β).

promove a fotoxidação da água e a liberação de O_2 . 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 b_6f (Cit bf)* e o *complexo ATP sintase*. A interligação entre os complexos fotossintéticos envolvidos no fluxo de elé-

trons 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, 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,

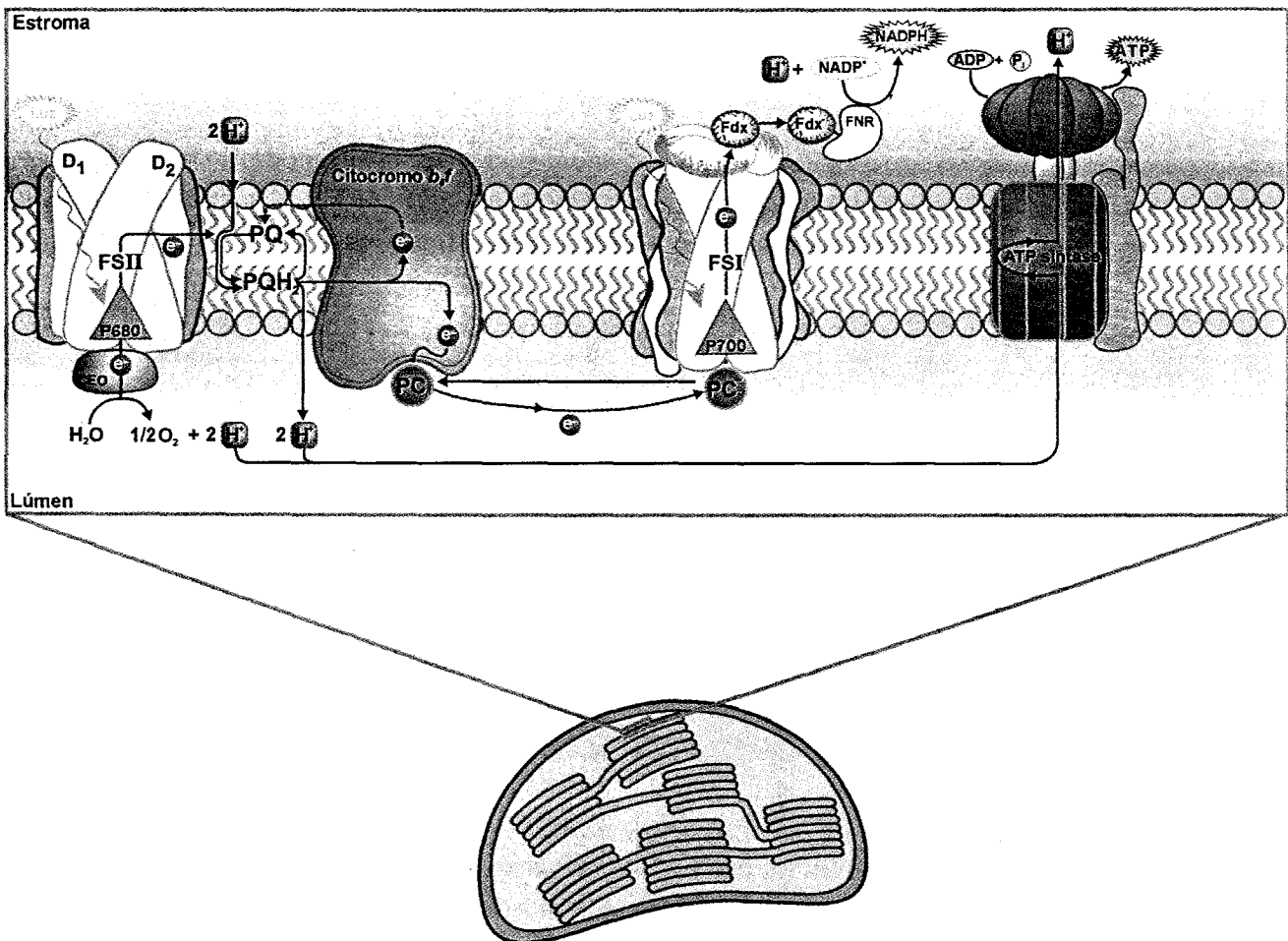


Fig. 5.13 Diagrama dos complexos protéicos, estruturados nas membranas dos tilacóides, responsáveis pelo transporte de elétrons e conservação da energia dos fótons em ATP e NADPH. A energia dos fótons é transformada em fluxo de elétrons nesses complexos protéicos e em gradiente de prótons entre estroma e lúmen dos tilacóides. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

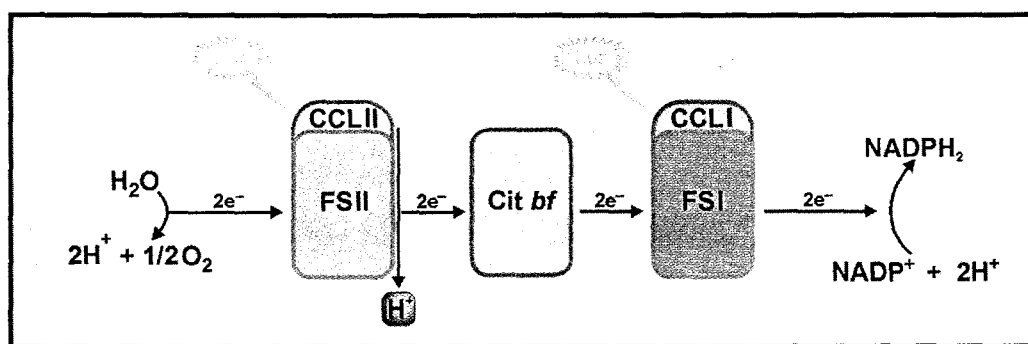


Fig. 5.14 Representação linear do transporte de elétrons através dos complexos fotossintéticos supramoleculares nas membranas dos tilacóides. (Hopkins, 1998, modificado.)

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 → PQ → Cit *bf*) e uma proteína que contém cobre, denominada plastocianina (Cit *bf* → PC → 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

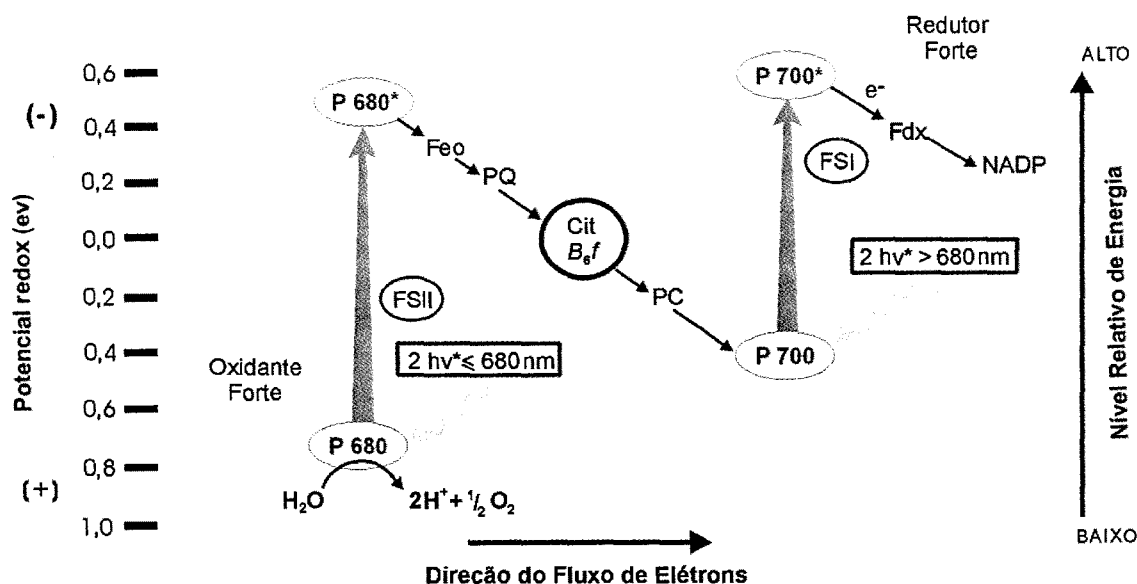


Fig. 5.15 O tradicional esquema Z representando o fluxo fotossintético de elétrons. Este diagrama associa os carreadores de elétrons do sistema fotoquímico aos seus respectivos potenciais redox e níveis de energia.

de elétrons na fotossíntese esteve baseada no esquema Z, modelo originalmente proposto por Hill & Bendall em 1960.

O FOTOSISTEMA 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 anaeróbias 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. 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).

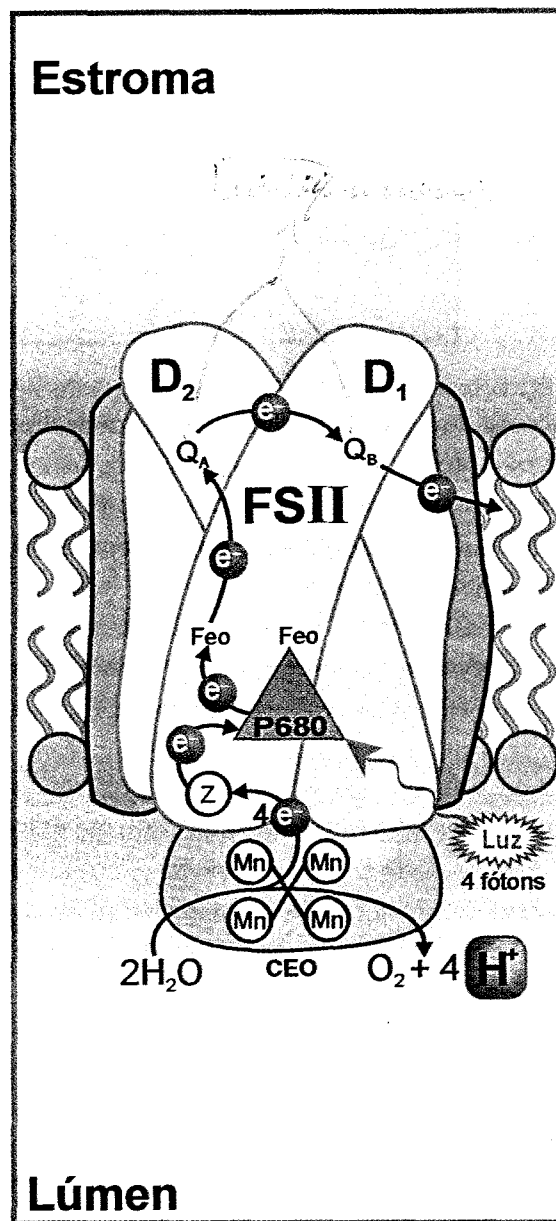


Fig. 5.16 Diagrama esquemático do complexo FSII na membrana dos tilacóides. São mostradas as proteínas integrais das membranas essenciais ao funcionamento do FSII (D_1 e D_2). As setas indicam a direção do fluxo fotossintético dos elétrons impulsionados pela luz. As proteínas CP47 e CP43 são proteínas 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 fotoxidação 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.)

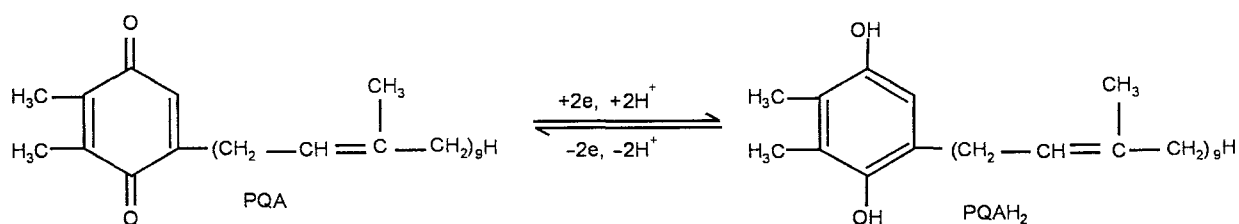
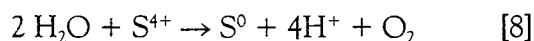


Fig. 5.17 Estrutura da plastoquinona – forma oxidada e forma reduzida.

A FOTOXIDAÇÃO DA ÁGUA

A excitação do CR do FSII (P680*) gera um oxidante forte (P680⁺), que retorna ao seu estado de equilíbrio (neutralidade) 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 O₂. O processo de fotoxidação 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 (O₂). Isso envolve a oxidação de duas moléculas de água com a liberação de quatro prótons e quatro elétrons. Assim, para cada O₂ 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 com que o centro mangânico saia do estado S⁰ para S⁴⁺, que é o componente oxidante que reage com a água, restaurando, assim, o estado de oxidação do centro mangânico para a condição S⁰:



Considerando-se que os fotossistemas I e II operam de modo simultâneo e em série, são necessários, **no mínimo, 8 fótons** para cada O₂ 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 aumen-

to 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-enzofre*. 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 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 A₀ (provavelmente, uma molécula de clorofila modificada), formando o par P700⁺/A₀⁻. A molécula reduzida A₀⁻ 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 cloroplastos (redução do NO_3^- e de SO_4^- , 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⁺ oxidoreductase (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.

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

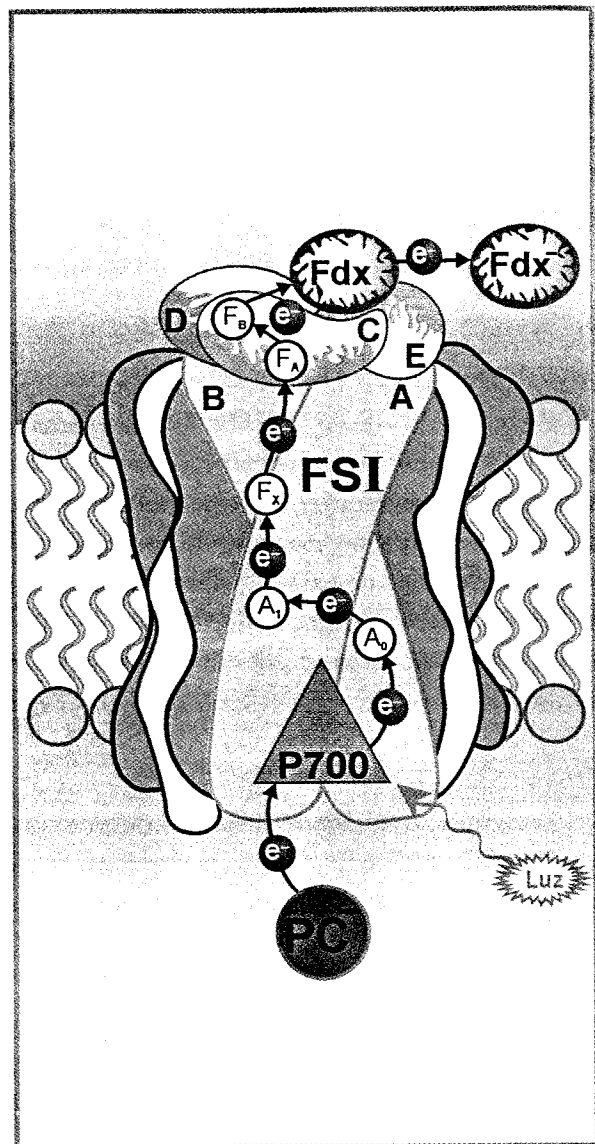


Fig. 5.18 Modelo esquemático do complexo do FSI na membrana dos tilacóides. As principais proteínas integrais são designadas pelas letras maiúsculas (A e B) e abrigam P700 e os carreadores de elétrons A_0 , A_1 , F_x . A proteína C está associada aos aceptores finais de elétrons F_A e F_B e a dois grupos 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.)

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

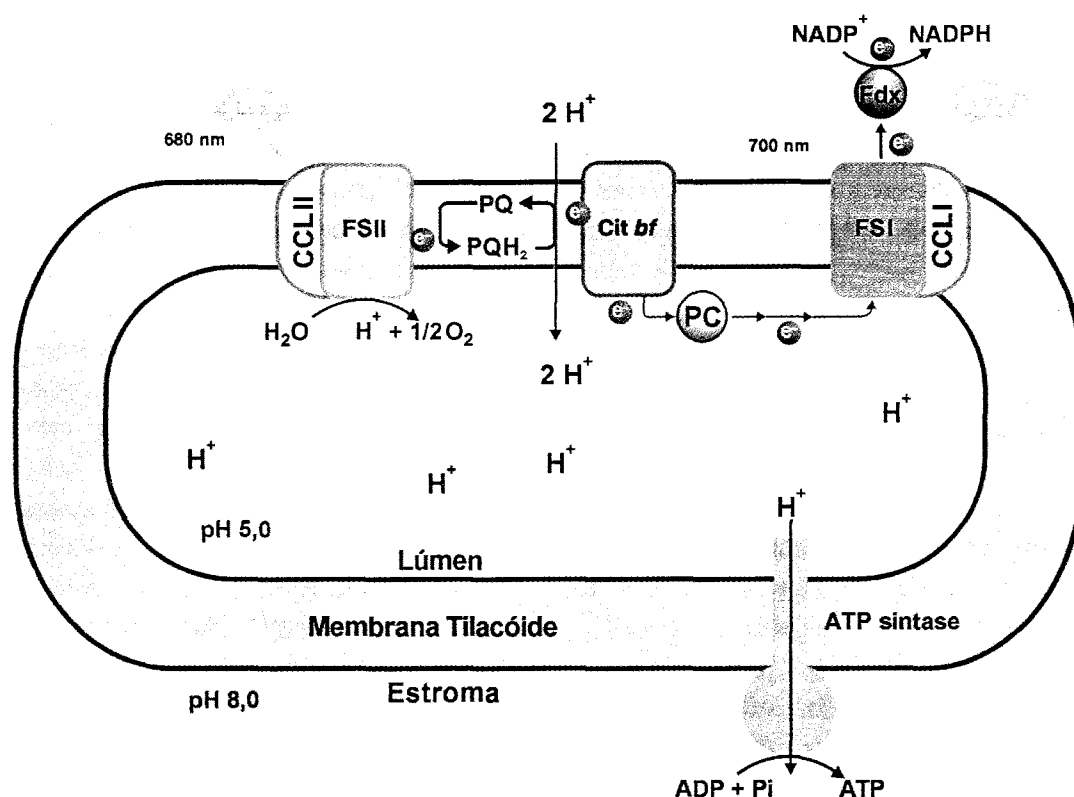


Fig. 5.19 Modelo esquemático das membranas dos tilacóides mostrando o acoplamento entre o transporte fotossintético de elétrons e a fotofosforilação. A energia armazenada no gradiente de prótons, gerado pelo fluxo fotossintético de elétrons, é utilizada pela ATP sintase para a formação de ATP a partir de ADP e Pi (fosfato inorgânico).

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 cloro-

plastos, 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 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_6/f . 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 O_2 . 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 CO_2 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 CO_2 no interior das folhas. Como grande parte do

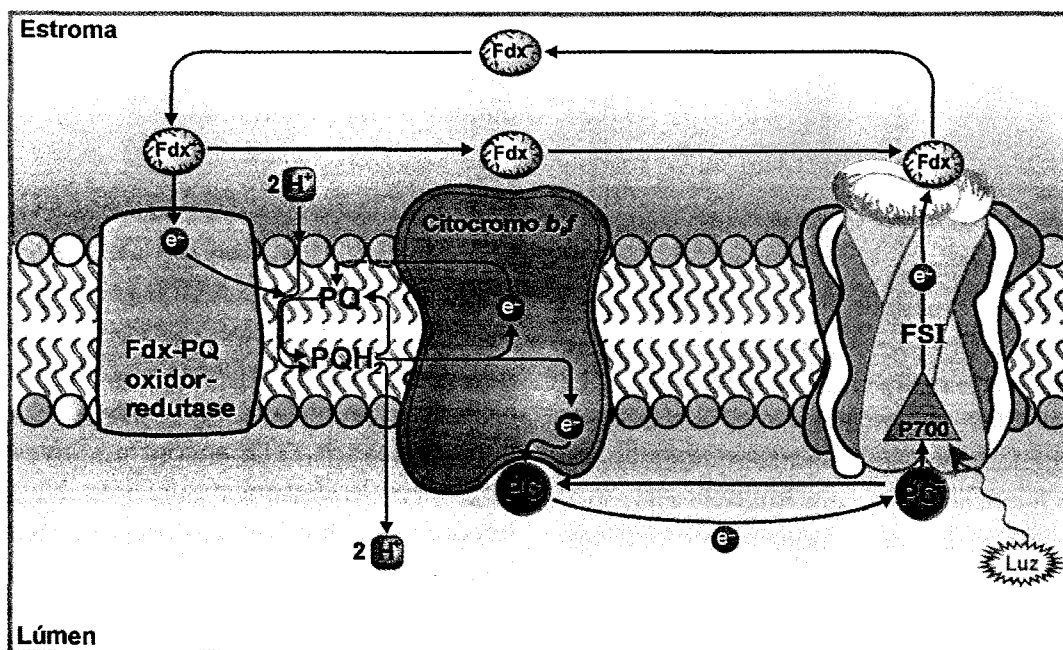
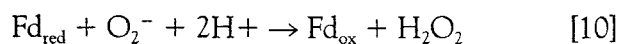
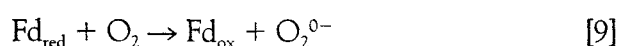


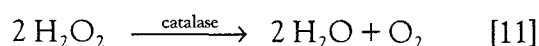
Fig. 5.20 Modelo de transporte cíclico de elétrons nas membranas dos tilacóides. O transporte cíclico de elétrons envolve o FSI, a enzima ferredoxina-plastoquinona oxidoreductase e o complexo citocromo b_6/f . O único produto dessa via é o ATP sintetizado utilizando o gradiente de prótons gerado pela oxidação da plastoquinona reduzida $-PQH_2$. (Buchanan *et al.*, 2000, modificado.)

NADPH gerado no processo fotoquímico é consumido na fixação do CO_2 , 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 CO_2 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 ($\text{O}_2^{\circ-}$). A síntese de ATP que resulta do fluxo de elétrons da água para o O_2 é chamada de *fosforilação pseudocíclica*. Esse fenômeno é importante porque, além do radical livre superóxido, há a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), numa reação denominada reação de Mehler:



Peróxido de hidrogênio e $\text{O}_2^{\circ-}$ reagem formando outro radical livre muito reativo, o íon hidroxil ($^{\circ}\text{OH}$). 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 bipiridilium* – 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 bipiridilium transferem elétrons diretamente para o oxigênio, catalisando a formação de radicais superóxido. Uma vez absorvidos, os herbicidas bipiridilium matam rapidamente as plantas em presença de luz (Buchanan *et al.*, 2000).

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 elé-

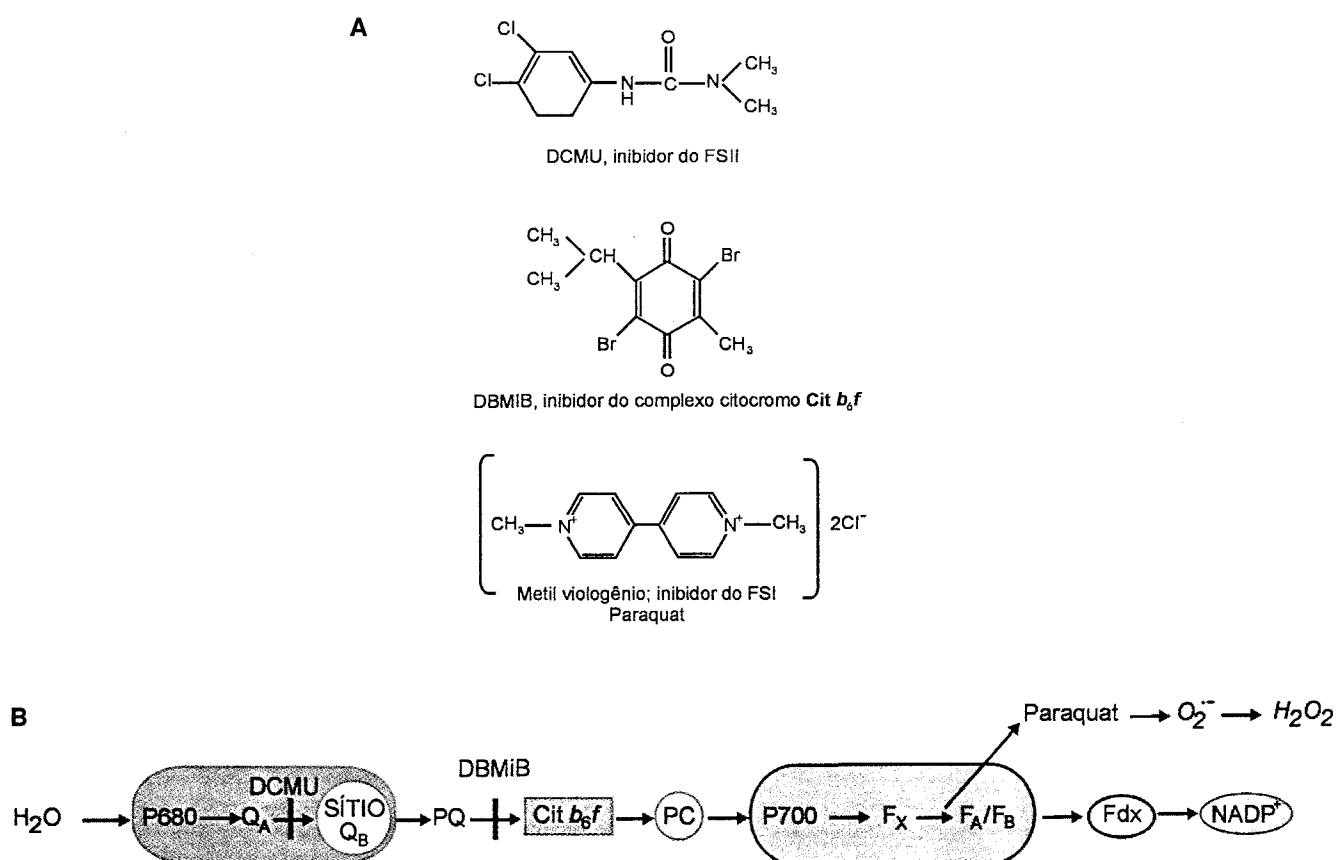


Fig. 5.21 (a) Estrutura química de três herbicidas que atuam inibindo o fluxo fotossintético de elétrons. O DCMU 3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea; DBMIB 2,5-dibromo-3-metil-6-isopropil-*p*-benzoquinona e o paraquat (metil viologênio); (b) sítio da ação dos herbicidas inibidores do transporte fotossintético 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.)

trons (não-cíclico) ocorre nos 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 elé-

trons, 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

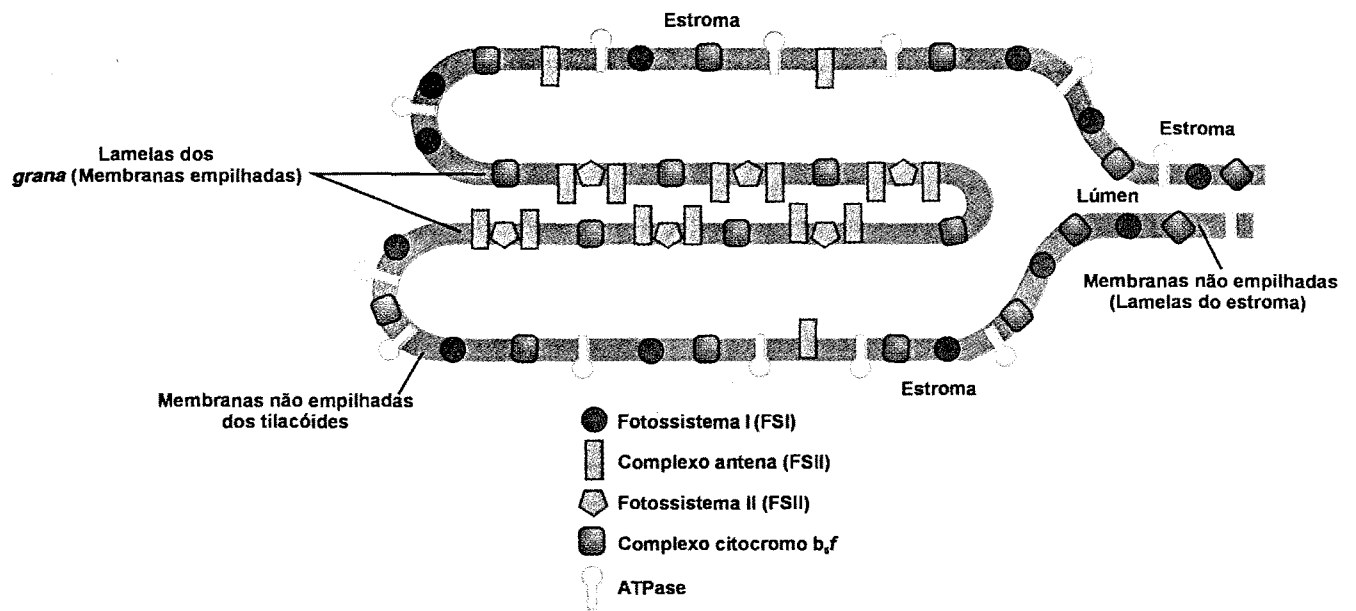


Fig. 5.22 Distribuição dos complexos supramoleculares do processo fotoquímico nas membranas dos tilacóides. As unidades do FSII estão localizadas nas regiões empilhadas das membranas dos tilacóides, enquanto as unidades do FSI e da ATP sintase estão localizadas nas regiões dos tilacóides em contato com 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.)

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 consideradas 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 fotossiste-

mas 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 bifsosfato 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

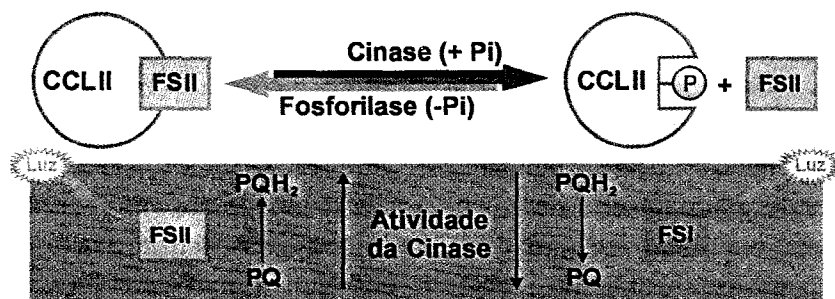


Fig. 5.23 A fosforilação reversível do complexo de captura de luz do FSII (CCLII) regula o fluxo de elétrons entre os fotossistemas II e I. Excesso de energia de excitação no FSII resulta no acúmulo de plastoquinona reduzida (PQH_2). A elevada concentração de PQH_2 ativa uma proteína cinase que fosforila 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.)

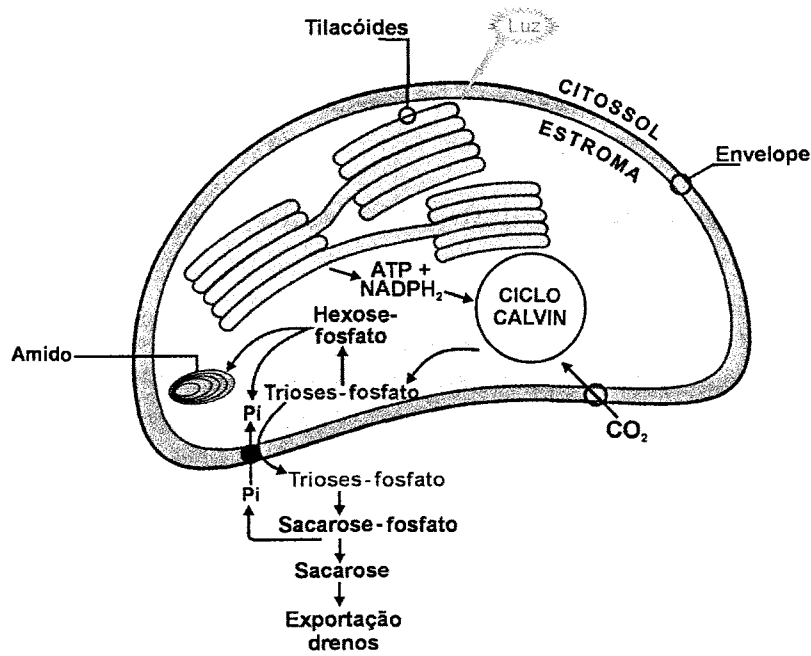


Fig. 5.24 O ciclo fotossintético redutivo é responsável pela fixação do CO₂ e geração de carboidratos na fotossíntese (ciclo de Calvin ou ciclo C₃). Seu funcionamento é dependente do ATP e NADPH gerados na etapa fotoquímica da fotossíntese. As trioses-fosfato formadas no ciclo C₃ podem ser alocadas para 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.

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 CO₂ e O₂ *competem entre si pelo mesmo sítio ativo da rubisco*, reagindo com o mesmo substrato (RuBP). Enquanto a

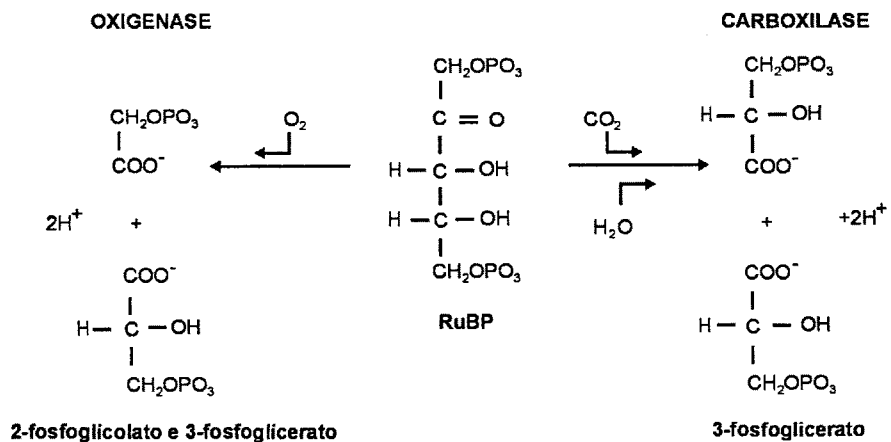


Fig. 5.25 A carboxilação e a oxigenação da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP), reações catalisadas pela rubisco.

carboxilação resulta somente na formação de duas moléculas de um ácido orgânico de 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 precursores 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 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

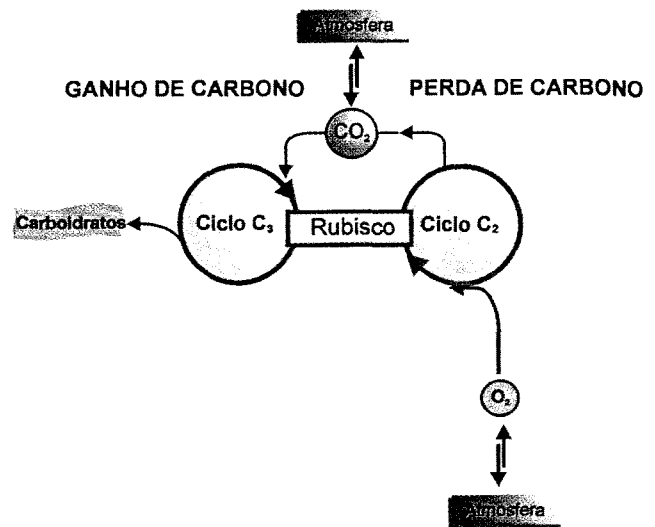


Fig. 5.26 Esquema relacionando os ciclos fotossintéticos redutivo (C_3) e fotossintético oxidativo (C_2). A rubisco inicia o ciclo C_3 e o ciclo C_2 (fotorrespiração), dependendo do gás atmosférico que reage com a RuBP. (Buchanan et al., 2000, redesenhado.)

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 ($K_{m(\text{CO}_2)}$, $K_{m(\text{O}_2)}$, $V_{m\text{áx}}$) proveniente de diferentes espécies de plantas C_3 , verifica-se a existência de diferenças pequenas, porém significativas (Woodrow & Berry, 1988).

O ciclo C_3 (ciclo de Calvin-Benson)

A elucidação da via metabólica através da qual os vegetais fixam o CO_2 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 ^{14}C . A partir de meados da década de 40, Calvin, Benson, Bassham e uma equipe de colaboradores utilizaram o $^{14}\text{CO}_2$ 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 CO_2 , de modo que a fotossíntese atingisse um estado estacionário. Por um breve período de tempo, o $^{14}\text{CO}_2$ 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 $^{14}\text{CO}_2$. Procedia-se, então, à separação cromatográfica e identificação dos compostos orgânicos presentes nos extratos das algas. As regiões do papel de cromatografia marcadas com radio-

atividade podiam ser detectadas colocando-se o papel do cromatograma em contato com uma folha de filme de raios X, técnica essa conhecida como **autoradiografia**. Expondo as algas ao $^{14}\text{CO}_2$ 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 sequência 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 $^{14}\text{CO}_2$. 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 CO_2 . A via metabólica então desvendada envolve 13 reações organizadas de um modo cíclico.

O ciclo redutivo do carbono (ciclo C_3) é o responsável pela assimilação de carbono em todos os organismos, à exceção de algumas espécies de bactérias fotossintetizantes primitivas. As plantas C_3 compreendem 85% das angiospermas, maioria das gimnospermas e pteridófitas, todas as briófitas e algas.

ETAPAS DO CICLO C_3

O ciclo C_3 pode ser dividido em três fases: a **carboxilativa**, a **reduativa** 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 CO_2 fixada pela rubisco dá origem a duas moléculas de 3-fosfoglicerato (3PGA), primeiro composto estável do ciclo C_3 . O intermediário de 6 carbonos

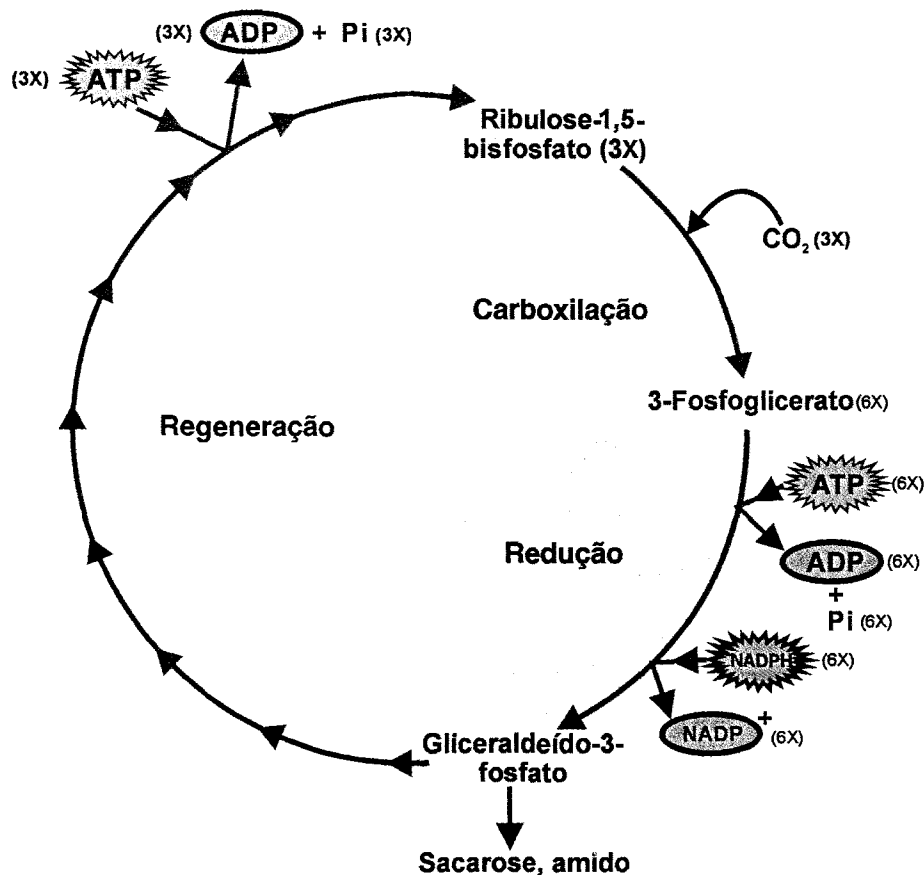
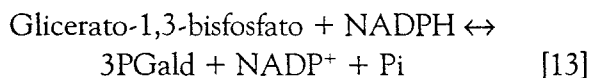
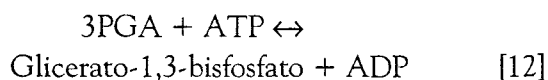


Fig. 5.27 O ciclo de Calvin pode ser dividido em três etapas: carboxilativa, reductiva e regenerativa.

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).

- 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 sequenciais, apresentadas a seguir, são catalisadas pelas enzimas *fosfato glicerato quinase* e *NADP:gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase*, respectivamente:



- 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

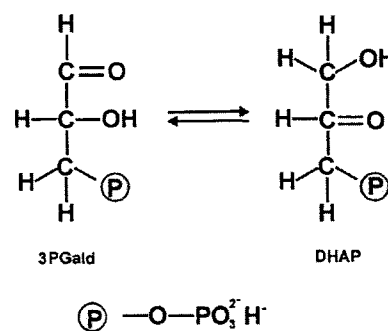


Fig. 5.29 Reação de conversão e estrutura das trioses-fosfato – gliceraldeído-3-fosfato (3PGald) e diidroxiacetona-fosfato (DHAP). A interconversão entre 3PGald e DHAP é catalisada pela enzima triose-fosfato isomerase.

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

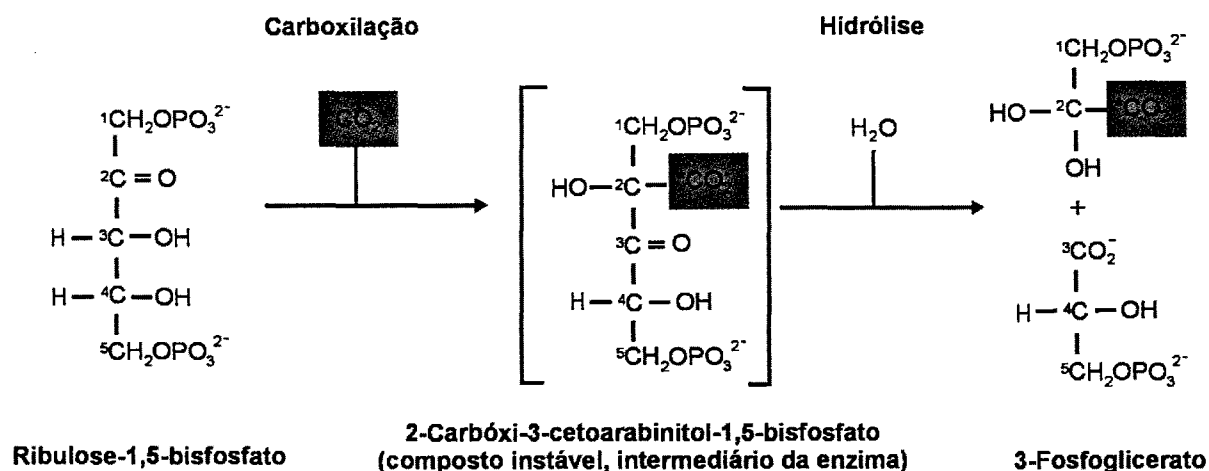
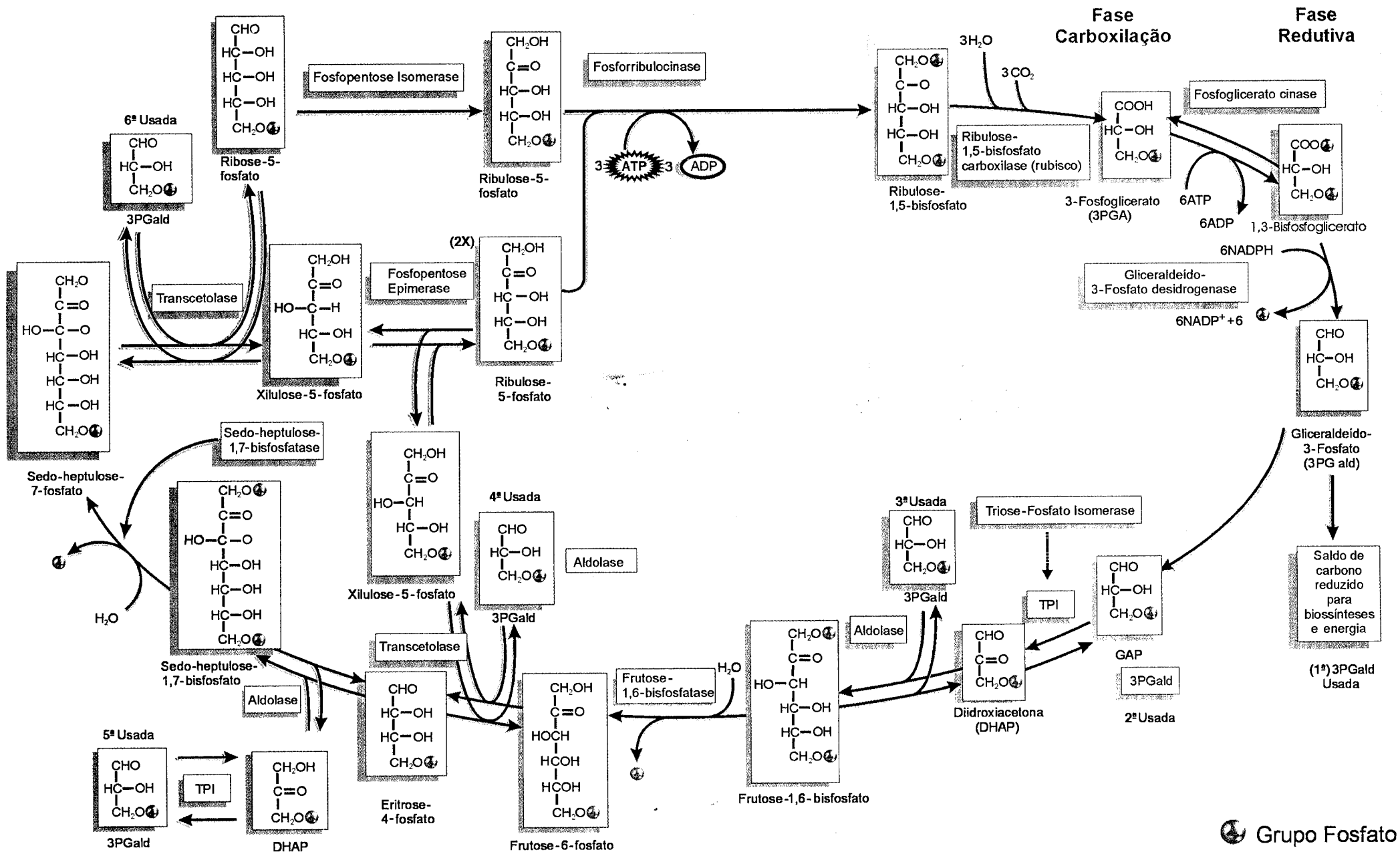


Fig. 5.28 Reação de carboxilação da ribulose-1,5-bisfosfato, catalisada pela rubisco. A molécula de 3PGA superior, no esquema, contém o novo átomo de carbono recém-incorporado, indicado com asterisco. (Taiz e Zeiger, 1991, modificado.)



Grupo Fosfato

Fig. 5.30 Esquema do ciclo de Calvin completo. (Buchanan *et al.*, 2000, redenhado.)

sua capacidade de fixação de CO_2 . A velocidade de assimilação de CO_2 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 CO_2 produz seis moléculas de triose-P. Cinco moléculas de triose-P ($5 \times 3\text{C}$) devem, necessariamente, regenerar três moléculas de RuBP ($3 \times 5\text{C}$), 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 C_3 . A formação de uma hexose exige seis voltas no ciclo, tendo como saldo duas moléculas de triose-P, retornado ao ciclo o equivalente a 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 carboxila-*

ção 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 *carbamilção*, 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.

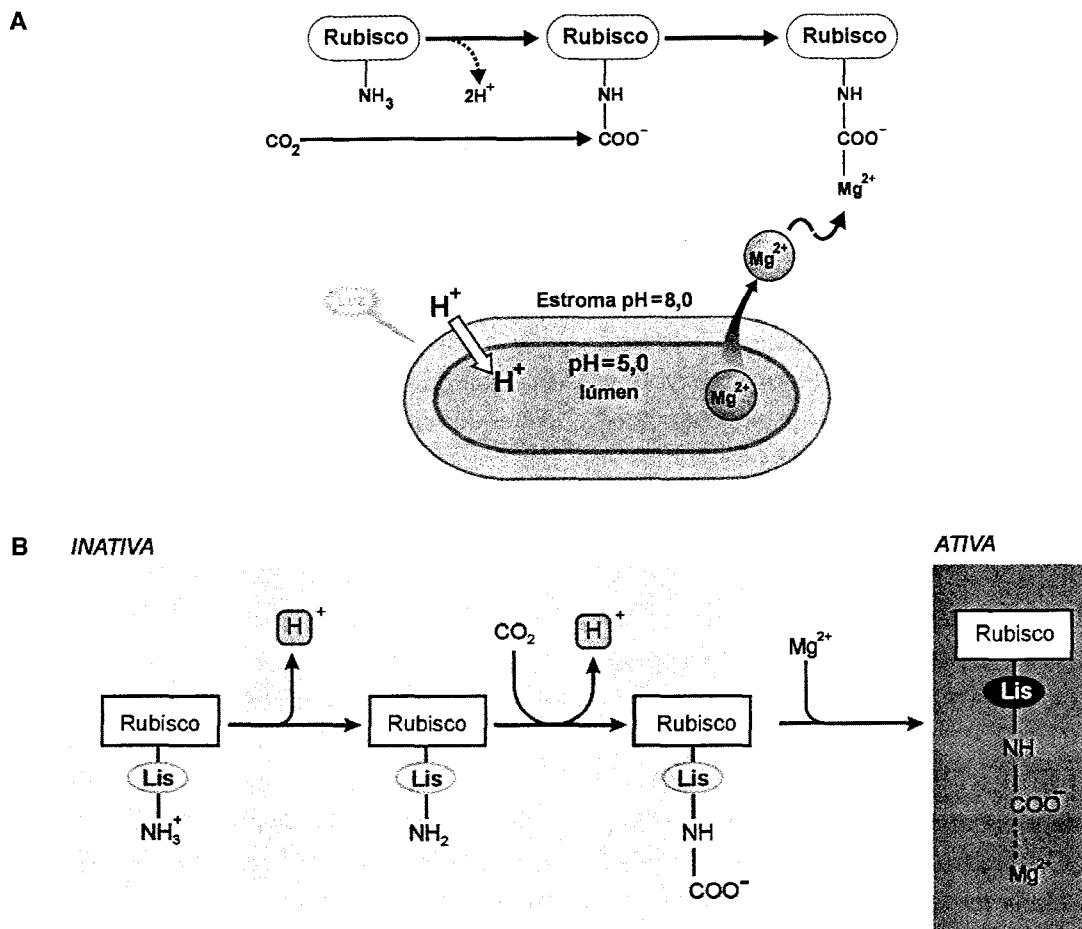


Fig. 5.31 Modelo de regulação da rubisco. **A.** A ativação da rubisco é catalisada pela rubisco ativase e favorecida pelo aumento do pH do estroma e da concentração de Mg²⁺ decorrentes do fluxo fotossintético de elétrons nos cloroplastos iluminados. **B.** A rubisco ativase remove a ribulose-1,5-bisfosfato ligada à rubisco inativa e descarbamilada, numa reação dependente de ATP. A rubisco livre pode então ser ativada por carbamilação ao se ligar ao CO₂ e, a seguir, ao Mg²⁺. (Hopkins, 1998, modificado.)

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 C₃

O mecanismo de ativação das quatro enzimas da fase regenerativa do ciclo C₃ (ver Regulação do ciclo

C₃) 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 grupos sulfidrílica, quando reduzidas (-SH HS-), e pontes dissulfeto, quando oxidadas (-S-S-).

O sistema ferredoxina/tiorredoxina, formado pela ferredoxina, pela ferredoxina-tiorredoxina redutase

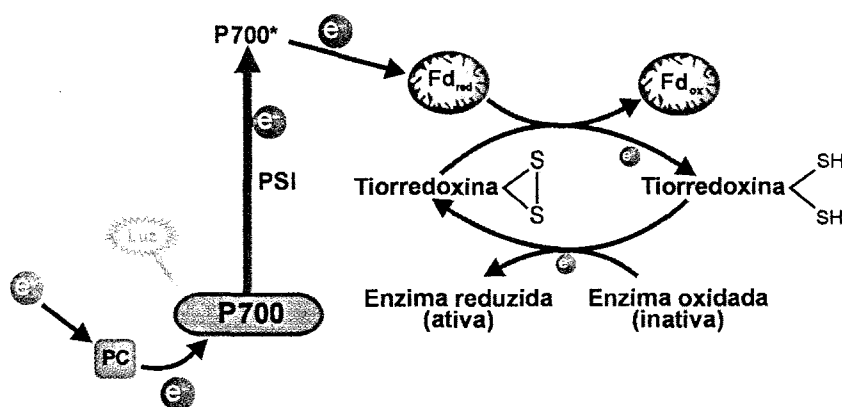


Fig. 5.32 Regulação da atividade de enzimas pelo sistema ferredoxina/tiorredoxina. Algumas enzimas do ciclo C_3 são ativadas pela luz através desse sistema. (Hopkins, 1998, modificado.)

(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 sequência, 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

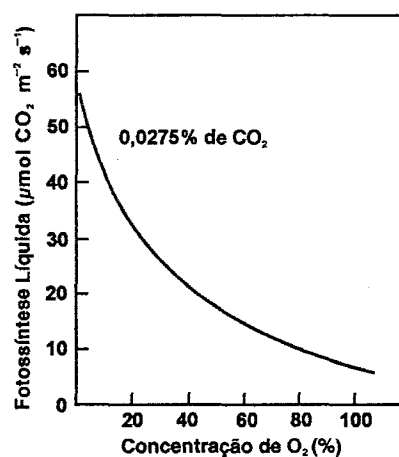


Fig. 5.33 Inibição da fotossíntese líquida em plantas de soja (C_3) pelo O_2 . Esse efeito inibitório do O_2 sobre a fotossíntese foi observado pela primeira vez em 1920, sendo conhecido como efeito Warburg. A atmosfera atual contém 20,9% de O_2 e 0,036% de CO_2 . (Salisbury & Ross, 1992, modificado.)

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 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 .

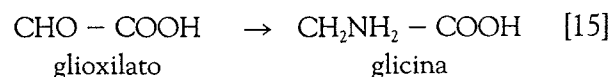
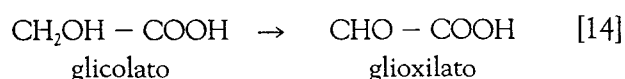
3. A origem bioquímica do glicolato gerado durante a fotossíntese.

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

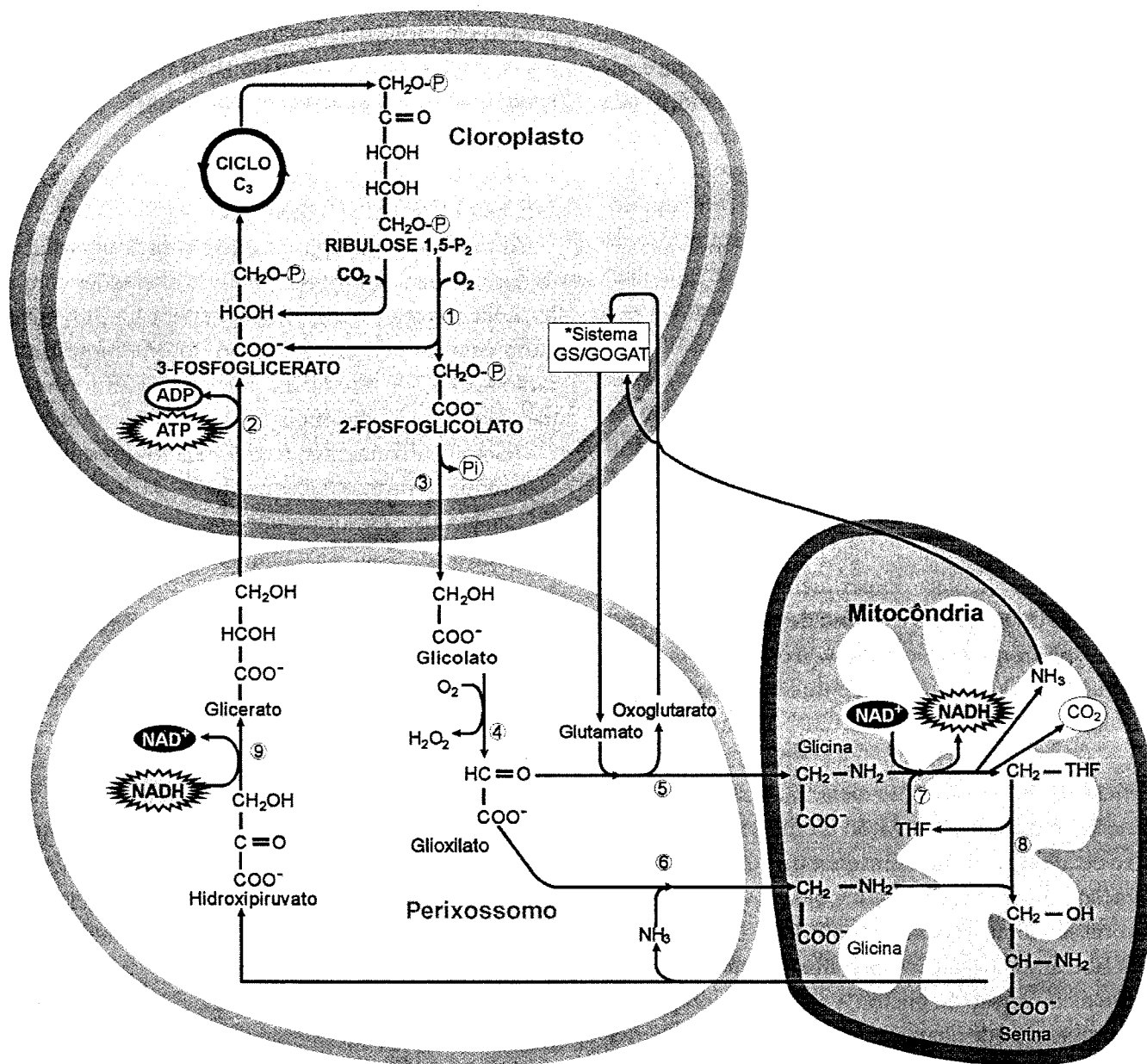
O 2-fosfoglicolato (2P-glicolato), gerado pela função *oxigenase* da rubisco, é ponto de partida da *via bioquímica C_2* que envolve enzimas localizadas em três

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:



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, onde duas moléculas de glicina (4 carbonos) são convertidas numa molécula do aminoácido *serina* (3 carbonos) e em uma molécula de CO_2 . Portanto, a fonte imediata do CO_2 liberado na fotorrespiração é a molécula de glicina. Normalmente, as taxas de liberação de CO_2 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 descarboxilada 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.



- | | |
|---|--|
| 1. Rubisco | 6. Serina: glioxilato aminotransferase |
| 2. Glicerato cinase | 7. Glicina descarboxilase |
| 3. 2-Fosfoglicolato fosfatase | 8. Serina hidroximetil transferase |
| 4. Glicolato oxidase | 9. NAD ⁺ hidroxipiruvato redutase |
| 5. Glutamato: glioxilato aminotransferase | |
- *GS – glutamina sintetase; GOGAT – glutamina: oxoglutarato aminotransferase

Fig. 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.)

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 $O_2:CO_2$ 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 $O_2:CO_2$ podem repercutir significativamente sobre as taxas de crescimento de uma planta, conforme ilustra a Tabela 5.3.

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

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.

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 redutivo 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 fotoxidção 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 CO_2 pode ser rapidamente atingido no interior dos espaços aéreos do mesófilo foliar, enquanto a concentração de O_2 tende a permanecer estabilizada em torno do valor atmosférico de 21%.

Mecanismos fotossintéticos de concentração de CO_2

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 CO_2 nas vizinhanças da enzima. Na presença de concentrações suficientemente elevadas de CO_2 , a reação de oxigenase é suprimida. Em plantas vasculares, são conhecidos dois mecanismos concentradores de CO_2 no sítio de carboxilação da rubisco, os quais analisaremos a seguir.

MECANISMO C_4

O mecanismo concentrador de CO_2 das plantas C_4 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 C_4 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 conseqüências fisiológicas particularmente importantes. A primeira é que o CO_2 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

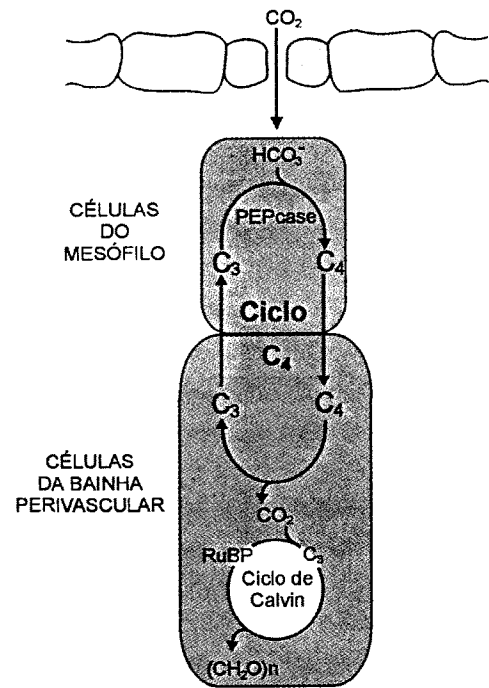


Fig. 5.35 O ciclo C_4 de assimilação fotossintética do carbono envolve divisão de tarefas entre dois tipos de células (células do mesófilo e células da bainha perivascular) e quatro etapas: (1) carboxilação do ácido fosfoenolpirúvico (PEP) catalisada pela PEP carboxilase, formando um ácido orgânico de 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.)

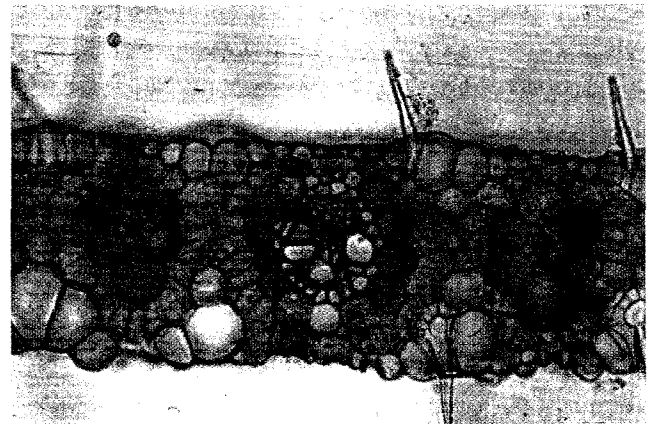


Fig. 5.36 Corte transversal de uma folha de planta C_4 (milho), caracterizando a anatomia *Kranz*. Em destaque, as células da bainha perivascular, envolvendo os feixes vasculares, contendo cloroplastos (10 \times). (Fotografia gentilmente cedida pelo Departamento de Botânica da UFRRJ.)

concentração de CO_2 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 distribui-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 60, 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 $^{14}\text{CO}_2$, 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 fosfoenol pirúvico* (*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 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 di-

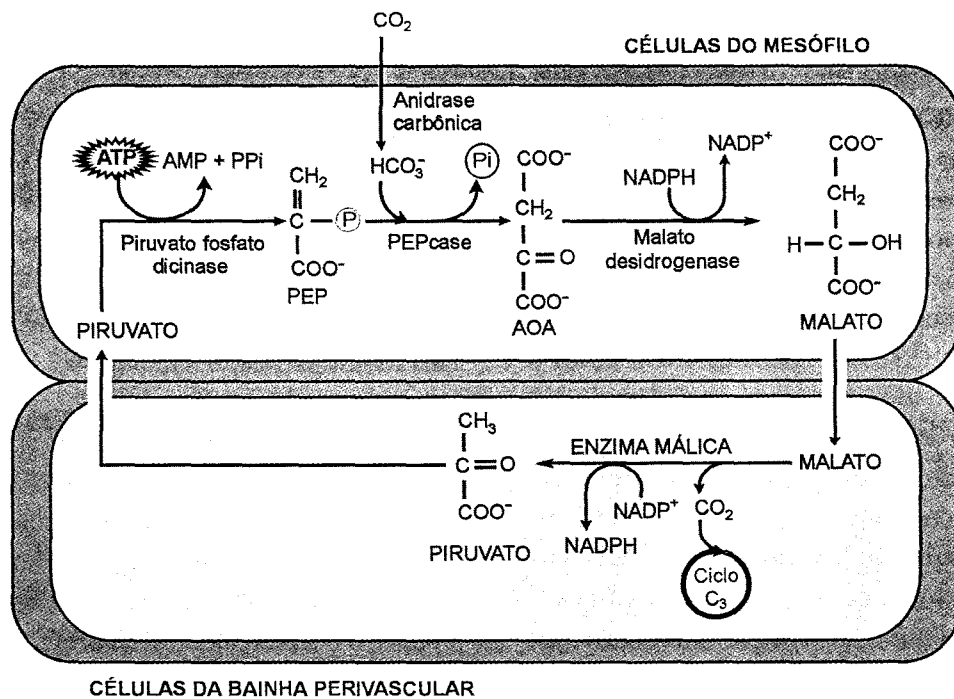


Fig. 5.37 A via fotossintética C_4 é responsável pelo “bombeamento” bioquímico do CO_2 da atmosfera para o ciclo de Calvin, que opera nos cloroplastos das células da bainha perivascular. A regeneração de cada molécula de PEP, a partir do piruvato, é catalisada pela piruvato fosfato dicinase e exige o gasto de duas moléculas de ATP.

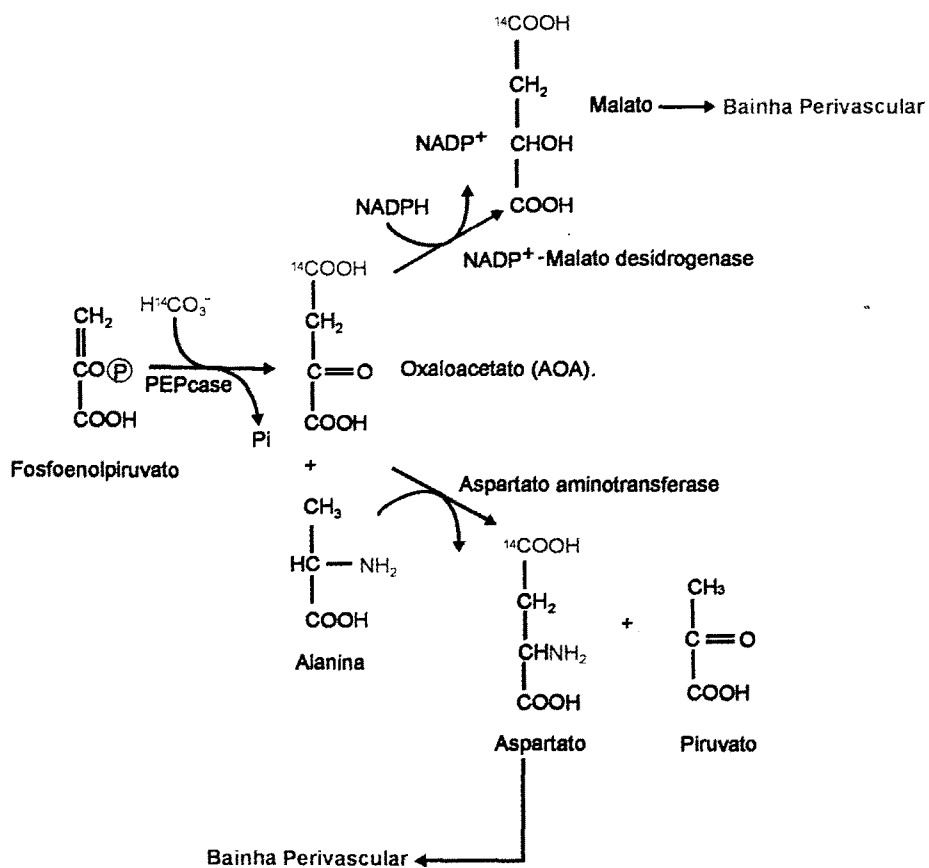


Fig. 5.38 O ácido oxaloacético, formado na reação de carboxilação catalisada pela PEPcase, pode ser reduzido a malato ou sofrer uma transaminação, dando origem ao aspartato.

visão 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:

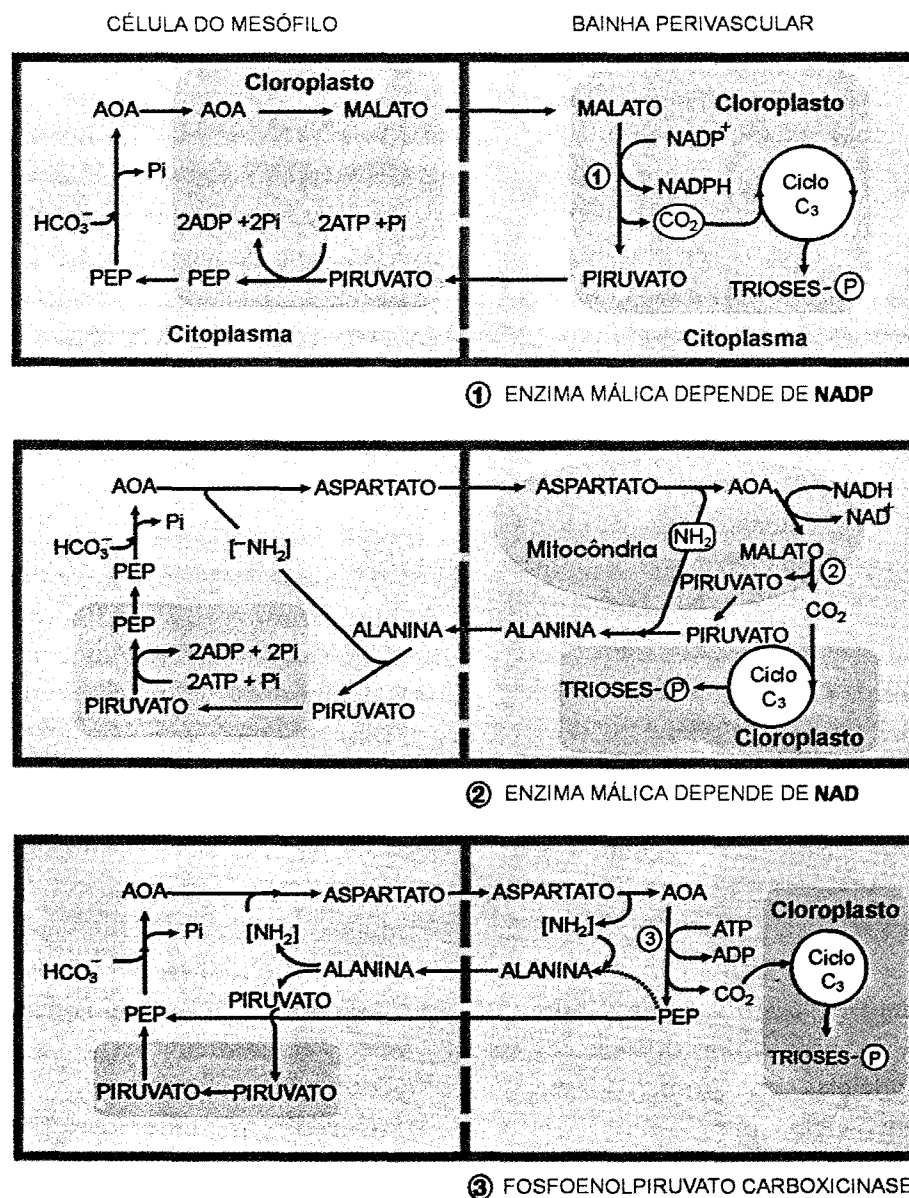
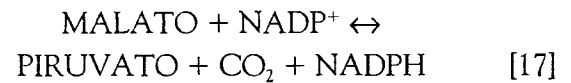
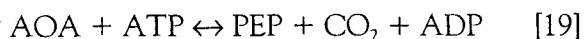
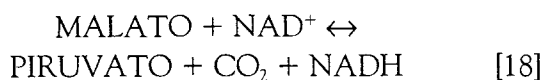
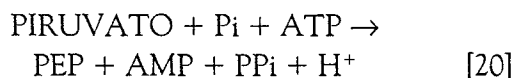


Fig. 5.39 Esquema das três vias de descarboxilação de moléculas C_4 nas células da bainha perivascular. O CO_2 liberado é imediatamente fixado pela rubisco.

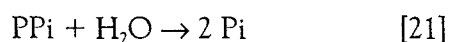


Nos cloroplastos das células da bainha vascular, as moléculas de CO_2 geradas pelas reações de descarboxilação são incorporadas ao ciclo de Calvin-Benson (ciclo C_3). O produto de 3 carbonos resultante retorna às células do mesófilo, onde será utilizado para regenerar a molécula primária que reage com 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*:



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 tiorredoxina, 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 atmosfera) e à competição diurna pelo CO_2 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 gimnospermas. 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 C_3 , 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 C_3 . Bromeliáceas e Orquidáceas 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 CO_2 no período noturno. O mecanismo MAC fundamenta-se num processo de *carboxilação* (noturna) seguido de uma *etapa de descarboxilação* (diurna), esta última responsável pelo suprimento de CO_2 para o ciclo C_3 . 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 CO_2 também é catalisada por uma isoforma da PEPcase. O CO_2 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 CO_2 para o ciclo C_3 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 C_4 é o mesmo, diferenciando-se quanto à sua regulação. Nas plantas C_4 , há uma separação espacial (anatômica) entre a carboxilação pela PEPcase e o ciclo C_3 , processos que transcorrem simultaneamente. Já nas plantas MAC, a separação desses eventos é apenas temporal, ocorrendo na mesma célula fotossintética. A fixação do CO_2 atmosférico pela PEPcase se processa à noite, enquanto a fixação de CO_2 pelo ciclo de C_3 ocorre durante o dia.

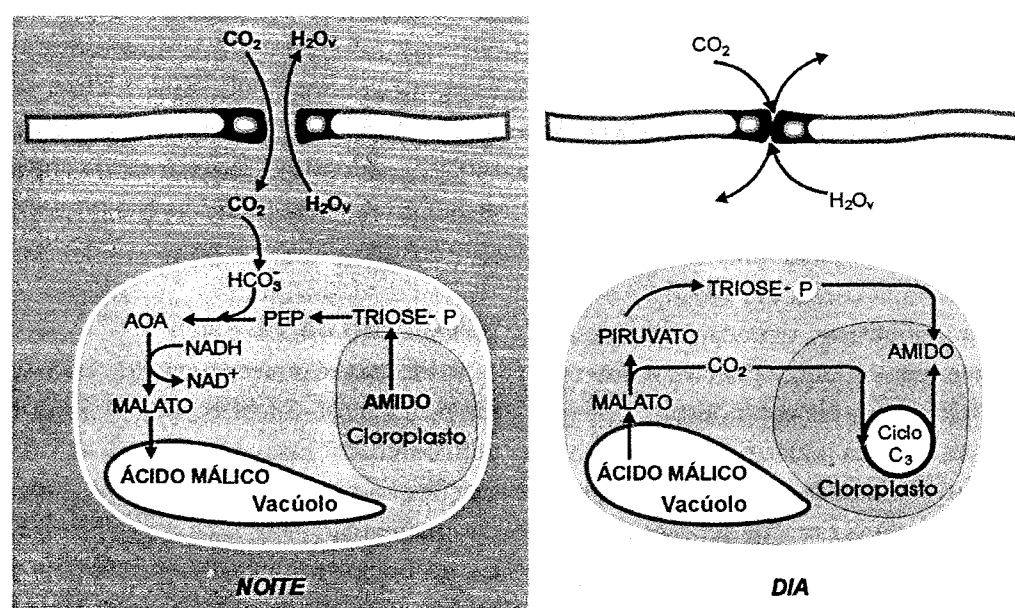


Fig. 5.40 Esquema representativo do metabolismo ácido das crassuláceas (MAC), mostrando a separação temporal entre a fixação do CO_2 atmosférico pela PEP carboxilase (noturna) e a fixação de CO_2 pelo ciclo de Calvin (diurna). A fixação noturna de CO_2 leva ao acúmulo de malato no vacúolo. Durante o dia, o malato é descarboxilado, fornecendo CO_2 para o ciclo de Calvin. (Leegood, 1983, modificado.)

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 periódico. A fixação noturna de CO_2 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 CO_2 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 C_3 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 CO_2 gerado pela respiração e fotorrespiração. Tal reciclagem de CO_2 , 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 CO_2 é extremamente limitante durante o período diurno. A grande vantagem das plantas dotadas de mecanismo MAC é sua capacidade de utilizar o CO_2 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 $25 \mu\text{M}$, o $K_m(\text{HCO}_3^-)$ da PEPcase situa-se em torno de $8 \mu\text{M}$ (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).

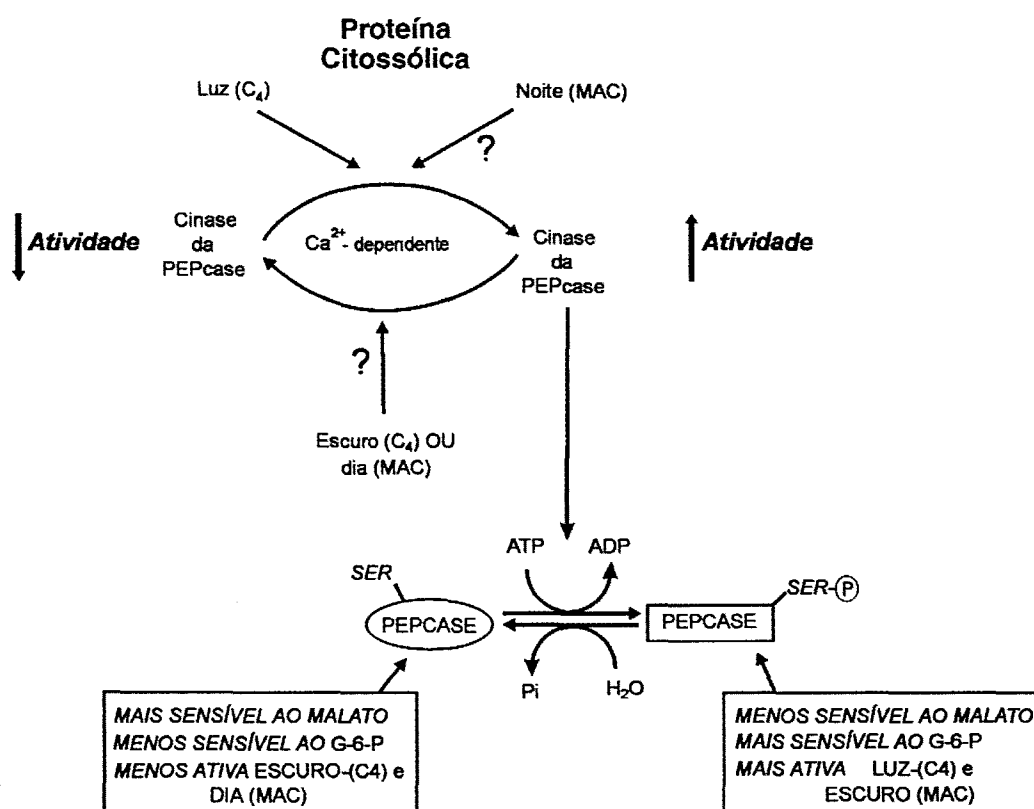


Fig. 5.41 Modelo de mecanismo molecular proposto para a regulação da atividade da PEP carboxilase em plantas C_4 (diurna) e MAC (noturna). A luz em plantas C_4 e um sinal noturno ainda desconhecido em plantas MAC ativam uma cinase da PEP carboxilase. Essa cinase, ao fosforilar a PEP carboxilase, aumenta a sua atividade. (Cholet *et al.*, 1996, modificado.)

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 nucleicos, 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*).

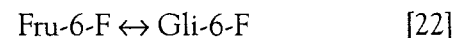
Durante o período luminoso, o amido acumula-se no estroma dos cloroplastos na forma de grânulos, ao passo que, durante a noite, o amido é remobilizado e consumido na respiração. Na maioria das plantas, a sacarose é a principal forma de transporte e distribuição dos fotoassimilados para as regiões consumidoras (*drenos*), representadas pelas raízes, ápices caulinares, folhas imaturas e órgãos de reserva em formação (frutos, sementes, tubérculos). A sacarose é sintetizada no citossol das células fotossintéticas. Algumas plantas, tais como a soja, o espinafre e o tabaco, armazenam o excesso de fotoassimilados como amido nos cloroplastos. Porém, plantas como o milho, a aveia e a cevada armazenam, temporariamente, grande par-

te 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.

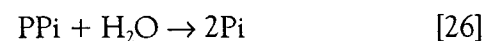
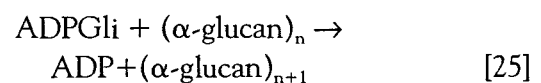
Síntese de amido nos cloroplastos

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:



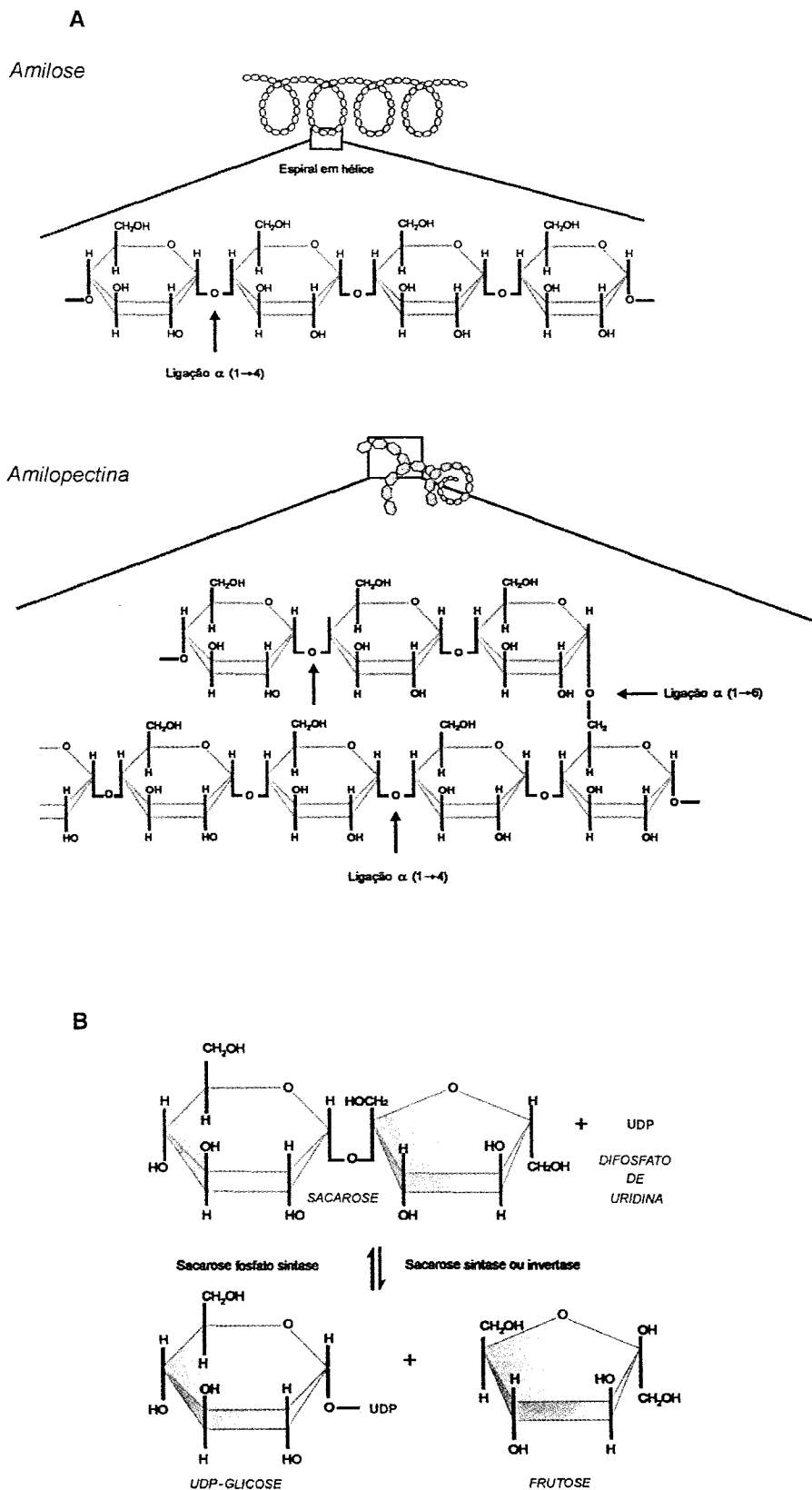


Fig. 5.42 Estrutura da molécula de amido (A) e de sacarose (B).

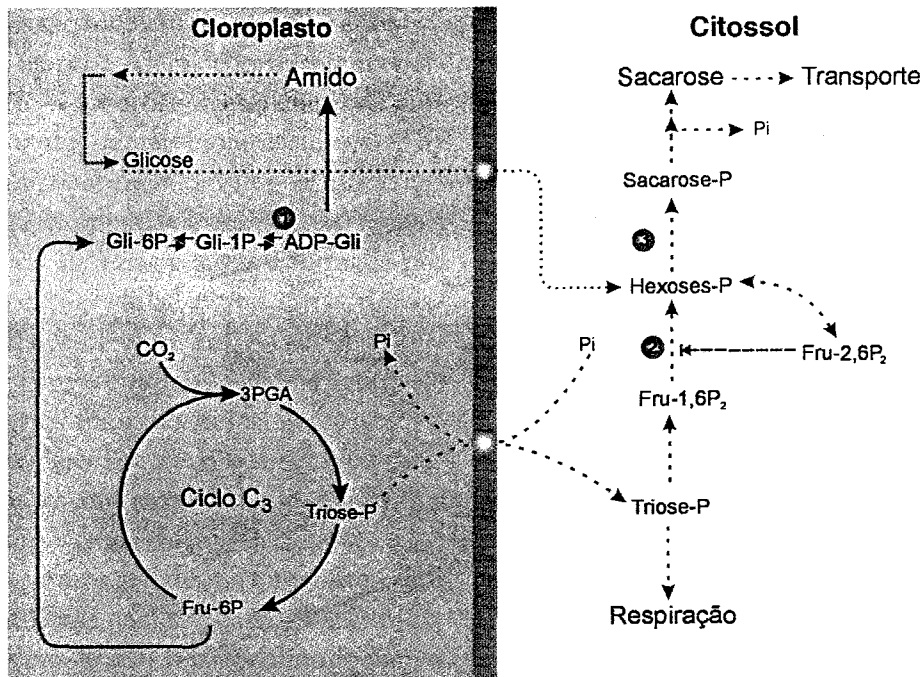


Fig. 5.43 Diagrama do fluxo de carbono nas células fotossintéticas. As linhas sólidas indicam as reações que ocorrem no período luminoso, e as linhas pontilhadas, as reações que ocorrem predominantemente no escuro. As linhas tracejadas indicam os processos que ocorrem ao longo de 24 horas. (1) ADP-glicose pirofosforilase; (2) frutose-1,6-bisfosfatase; (3) sacarose fosfato sintase – SPS.

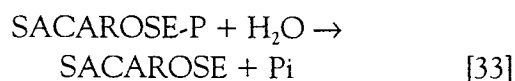
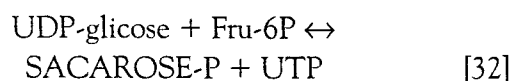
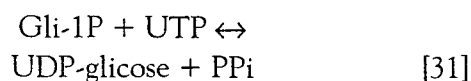
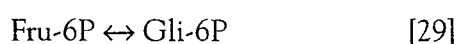
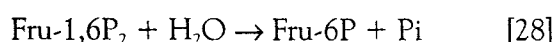
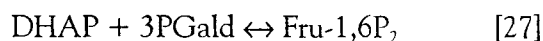
A ADP-glicose pirofosforilase (equação [24]) catalisa a síntese de ADPGli e PPi a partir da Gli-1-F e ATP. Estudos conduzidos em diferentes espécies revelam que a ADP-glicose pirofosforilase é uma enzima reguladora chave da síntese de amido, sendo alostericamente *ativada* pelo ácido 3-fosfoglicérico (3PGA) e *inibida* pelo fosfato inorgânico (Pi). Dependendo da espécie e do pH, o 3PGA pode aumentar a atividade da ADP-glicose pirofosforilase 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 cloro-

plastos (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 C₃ 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 necessariamente 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 CO₂, o consumo de trioses-P reduziria a disponibilidade de compostos intermediários no ciclo C₃. 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 inten-

samente 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 "grosseiro". 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 grosseiro 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 CO₂, 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 CO₂, 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 C₃ 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 C₃, C₄ 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 C₄ 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 C₄. Já as espécies C₃ 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 C₄ tendem a ocorrer com grande freqüência durante as etapas iniciais (espécies pioneiras), sendo paulatinamente substituídas por espécies C₃ à medida que os níveis de sombreamento da comunidade vegetal aumentam.

As respostas diferenciadas das plantas C₃, C₄ e MAC à variação da intensidade luminosa, à variação da concentração intrafoliar de CO₂, à temperatura e à disponibilidade de água e nitrogênio permitem compreender, parcialmente, o sucesso de cada tipo fo-

tossintético 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 CO₂ 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 C₃.

Nesta seção, analisaremos a variação quantitativa da fotossíntese em plantas C₃, C₄ 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 CO₂ em folhas, plantas ou comunidades vegetais fornecem informações diretas e precisas sobre as *taxas fotossintéticas de assimilação de CO₂*. Essas medidas também são freqüentemente denominadas *fotossíntese líquida (F_L)*. A maior parte das medidas de trocas de CO₂ 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 CO₂ do ar que circula, em fluxo forçado, através da câmara transparente (Fig. 5.44). O aparelho que detecta continuamente as variações da concentração do CO₂ 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 CO₂ 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 CO₂ do

sistema diminuirá. Caso não haja reposição de CO₂ absorvido, sua concentração continuará declinando até atingir o *ponto de compensação de CO₂* da fotossíntese (Γ). Quando essa concentração de CO₂ 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 CO₂ (Γ) é atingido no momento em que a fotossíntese líquida (F_L) é igual a zero:

$$F_L = F_{BR} - (R + F_R) \quad [34]$$

A fotossíntese bruta (F_{BR}) corresponde à capacidade carboxilativa total das folhas em determinada condição, sendo responsável pela retirada de CO₂ do ar e formação dos carboidratos (ciclo C₃). Em condições fotossintéticas estabilizadas e em atmosfera normal (presença de ¹²CO₂), a F_{BR} pode ser estimada através da determinação da assimilação de ¹⁴CO₂ 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 CO₂ para o ambiente. Portanto, a F_L corresponde à taxa de assimilação de CO₂ 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 CO₂).

Em resumo, concentrações de CO₂ que sustentam uma velocidade de carboxilação apenas igual às perdas de CO₂ por respiração e fotorrespiração produzem uma F_L igual a zero (equação [34]). Essas concentrações de CO₂ que geram F_L igual a zero, denominadas de ponto de compensação de CO₂, são variáveis com o tipo fotossintético, espécie e com as condições ambientais a que as plantas se encontram submetidas.

Fotossíntese líquida e disponibilidade de CO₂

A disponibilidade de CO₂ 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 CO₂ na fase líquida das células, até que o CO₂ encontre as enzimas de carboxilação. Nesse intercâmbio, os estô-

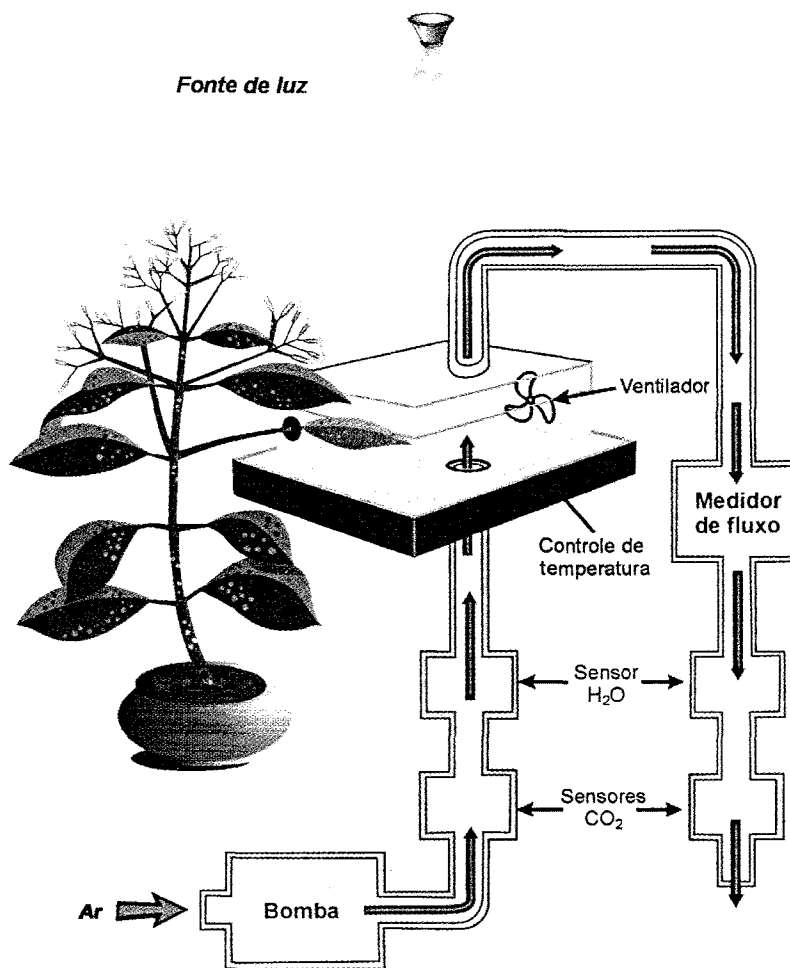


Fig. 5.44 Esquema de dispositivo para a medida das trocas de CO₂ realizadas por folhas iluminadas. O fluxo de ar através da câmara transparente é controlado e monitorado. O IRGA é um equipamento que permite quantificar a concentração de CO₂. A variação da concentração do CO₂ do ar que entra e deixa a câmara onde a folha realiza suas atividades metabólicas permite estimar a taxa de fotossíntese líquida. (Nobel, 1991, modificado.)

matos constituem o principal ponto de controle da entrada do CO₂ e, simultaneamente, o principal ponto de controle da perda de água pelas plantas (Fig. 5.6). À medida que a fotossíntese se desenvolve, o CO₂ consumido da atmosfera intracelular é repostado pelo CO₂ 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 CO₂ atmosférico. Portanto, durante os momentos diurnos de deficiência hídrica, as con-

centrações intracelulares de CO₂ tendem a diminuir drasticamente.

A variação da concentração de CO₂ produz respostas fotossintéticas substancialmente diferentes em plantas C₃ e C₄. A fotossíntese das plantas C₄ já se encontra saturada com cerca de 100 μl l⁻¹ de CO₂ nos espaços intercelulares do mesófilo foliar, enquanto, nas plantas C₃, a saturação é alcançada com 250 μl l⁻¹ de CO₂ (Fig. 5.45). Isso ocorre devido à elevada eficiência de carboxilação da PEPcase, combinada com a inibição da fotorrespiração promovida pelo mecanismo C₄ de concentração de CO₂ junto ao sítio ativo da rubisco. Esses dados quantitativos explicam por que a assimilação de CO₂ em folhas de plantas C₄ já

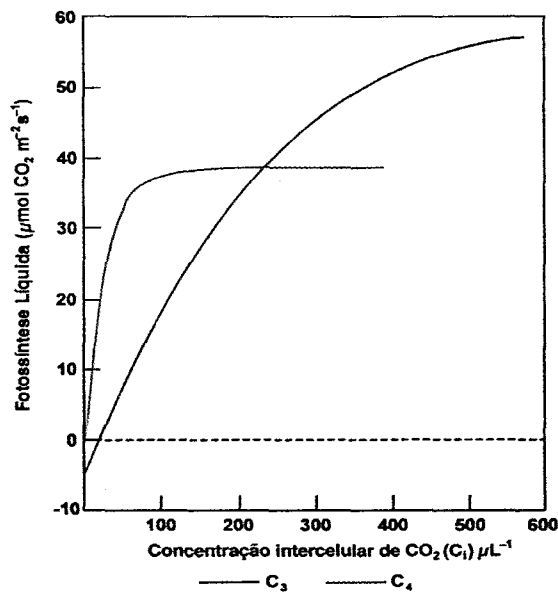


Fig. 5.45 Variação da fotossíntese líquida, em função da concentração de CO_2 intracelular, em plantas C_3 e C_4 . (Leegood, 1993, modificado.)

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 intracelulares de CO_2 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 $1-3 \text{ g CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$, enquanto, nas plantas C_4 , assume valores entre $2-5 \text{ g CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$ e, nas plantas MAC, valores entre $6-30 \text{ g CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$ (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

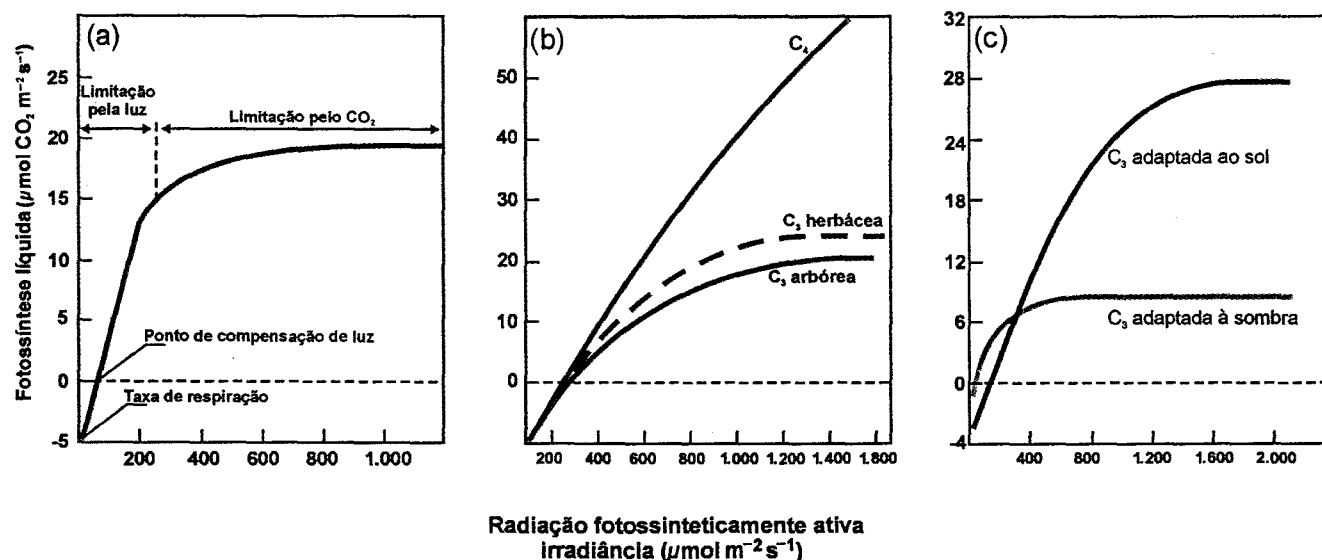


Fig. 5.46 Resposta da fotossíntese líquida à variação da intensidade de radiação fotossinteticamente ativa (número de fótons de RFA em $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). (a) Fotossíntese líquida em planta C_3 em diferentes intensidades luminosas; (b) fotossíntese líquida em plantas C_3 e C_4 em função da intensidade luminosa; (c) comparação da fotossíntese líquida de plantas C_3 adaptadas ao sol e à sombra em intensidades luminosas crescentes. (Larcher, 2000, modificado.)

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 intensidades luminosas e abaixo de 30°C , a fotossíntese das plantas C_3 é mais eficiente do que a fotossíntese das plantas C_4 . Isso ocorre porque a fixação de CO_2 através da via C_4 tem um custo energético superior ao da via C_3 (ver Balanço Energético do Ciclo C_3).

Sob elevadas intensidades luminosas, entretanto, as curvas de assimilação de CO_2 das plantas C_3 e C_4 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 C_3 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 C_3 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 C_4 , 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 C_3 podem vir a apresentar um desempenho fotossintético semelhante ao das plantas C_4 se a

atmosfera contiver uma reduzida concentração de O_2 (2%) ou com elevada concentração de CO_2 (0,07%). Tal observação experimental indica que a limitação da fotossíntese C_3 , sob elevada intensidade luminosa, está relacionada com as limitações do metabolismo do carbono (ciclos C_2 e C_3). Resumidamente, pode-se concluir que, sob elevadas intensidades luminosas, a fotossíntese das plantas C_3 é substancialmente limitada pela fotorrespiração.

PLANTAS DE SOL E DE SOMBRA

As plantas C_3 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 C_3 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.

Resposta fotossintética à temperatura foliar

Em condições atmosféricas normais, a fotossíntese de plantas C_3 e C_4 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 C_4 tendem a apresentar temperaturas ótimas para a fotossíntese mais elevadas do que as plantas C_3 . Em folhas de plantas C_3 , a assimilação de CO_2 atinge valores máximos na faixa de 20–30°C. Já as plantas C_4 apresentam temperaturas ótimas na faixa de 30–40°C. Entretanto, em temperaturas inferiores a 30°C, o desempenho fotossintético das plantas C_3 supera o desempenho das plantas C_4 . Abaixo de 20°C, as taxas fotossintéticas das plantas C_4 são muito inferiores às das plantas C_3 . Por outro lado, em temperaturas superiores a 30–35°C, a assimilação de CO_2 de plantas C_3 decresce rapidamente, em contraste com as plantas C_4 , que podem suportar temperaturas de até 45–50°C sem apresentarem danos à fotossíntese.

A sensibilidade das plantas C_4 a baixas temperaturas é um fato bem conhecido. A espécie *Zea mays*

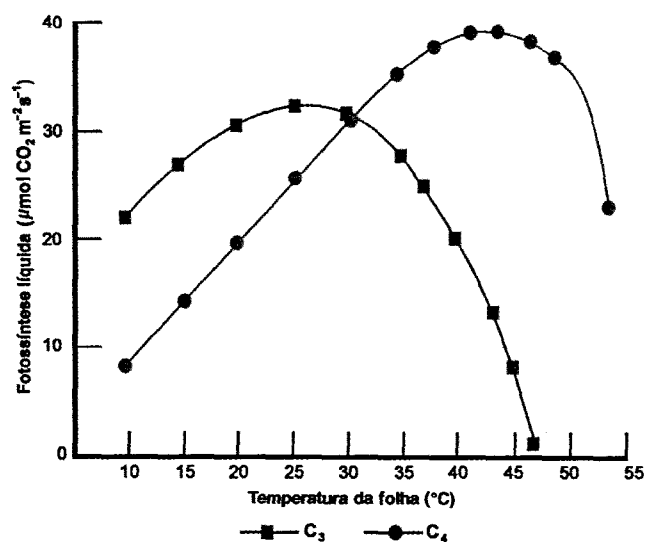


Fig. 5.47 Efeito da temperatura foliar sobre as taxas de fotossíntese líquida de plantas com metabolismo fotossintético C_3 e C_4 . (Leegood, 1993, modificado.)

(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 C_3 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 C_3 diminui continuamente à medida que a temperatura aumenta, mas permanece constante nas plantas C_4 , numa ampla faixa de temperatura. Em torno de 30°C, a eficiência quântica das plantas C_3 e C_4 é semelhante, indicando que os custos energéticos dos ciclos C_3/C_2 e do ciclo C_4 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 C_4 . Porém, nas plantas C_3 , as taxas de fotorrespiração aumentam com a temperatura devido ao aumento da atividade oxigenase da rubisco. Convém destacar, ainda, que os

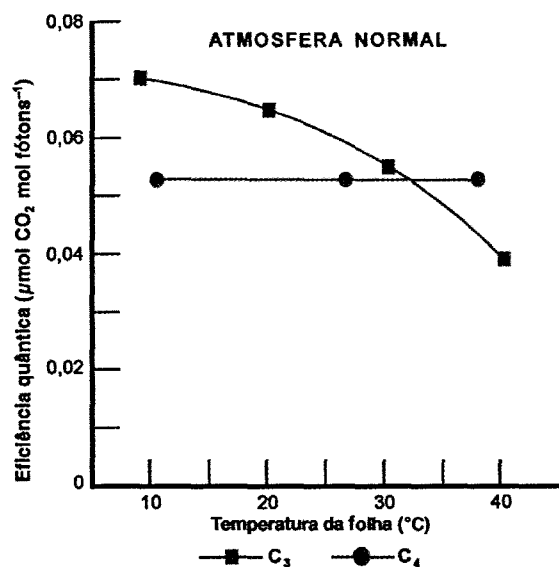


Fig. 5.48 Eficiência quântica de plantas C_3 e C_4 em função da temperatura foliar. A eficiência quântica é um índice que relaciona número de moles de CO_2 fixado pelo número de fótons absorvidos. (Leegood, 1993, modificado.)

custos energéticos da fixação de CO_2 pelas plantas C_3 se elevam à medida que aumentam as taxas do ciclo C_2 (ver O Papel da Fotorrespiração). Numa atmosfera com 2% de O_2 ou enriquecida com CO_2 , a fotorrespiração é suprimida nas plantas C_3 . Nessas condições, a eficiência quântica das plantas C_3 atinge níveis superiores ao das plantas C_4 . Isso se deve ao custo adicional permanente da fixação de CO_2 através da via C_4 (5 ATP e 2 NADPH) em comparação com o ciclo C_3 (3 ATP e 2 NADPH).

Em resumo, a fotossíntese das plantas C_4 é substancialmente mais eficiente do que a das plantas C_3 em ambientes quentes e intensamente iluminados. As bases fisiológicas centrais dessa adaptação são o mecanismo concentrador de CO_2 presente na fotossíntese C_4 , 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 clorofilas. 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)*.

$\text{EUN} = \text{mg N nos tecidos/g massa seca da planta}$

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 eficiência do 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 flores-

tas tropicais, a produtividade líquida é de cerca de $5.000 \text{ g m}^{-2} \text{ ano}$ (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).

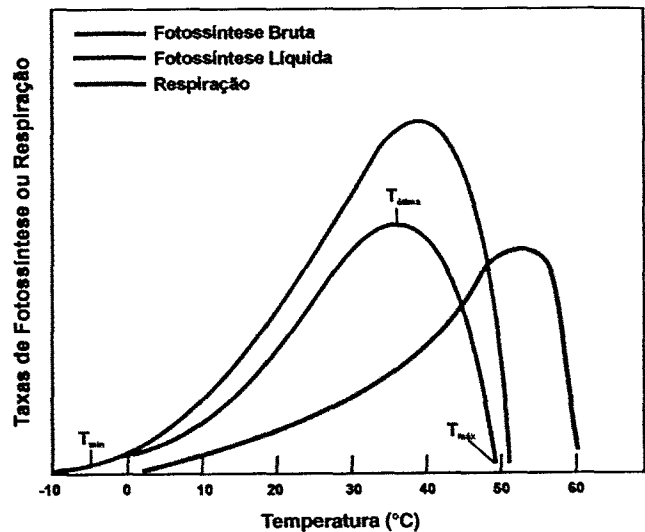


Fig. 5.49 Diagrama ilustrando o efeito da temperatura sobre as taxas de fotossíntese bruta, respiração e fotossíntese líquida. A fotossíntese líquida é determinada pela diferença entre a fotossíntese bruta e a respiração somada à fotorrespiração. A fotossíntese bruta aumenta até que a temperatura comece 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.

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 gama de condi-

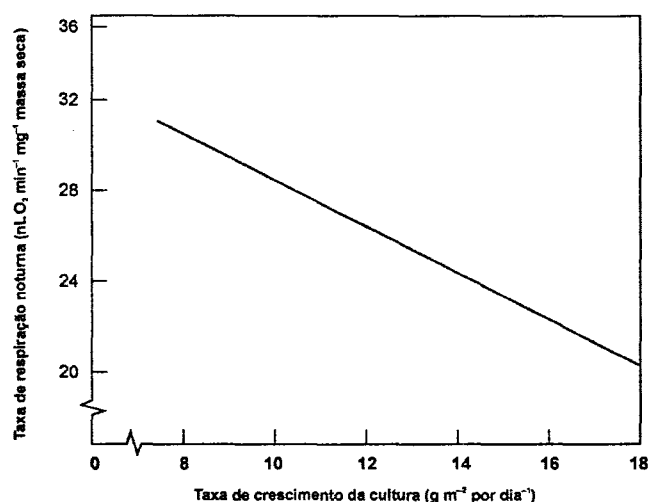


Fig. 5.50 Correlação entre taxas respiratórias e taxas de crescimento de plantas de diferentes genótipos de *Lolium perenne*. As taxas de crescimento são inversamente correlacionadas com as taxas de respiração basal dos tecidos foliares. (Wilson, 1982, modificado.)

ções 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 mesma área com folhas ordenadas em camadas de acordo com a espécie (Larcher, 2000).

$$\text{IAF} = \frac{\text{soma de toda a superfície foliar (m}^{-2}\text{)}}{\text{área do solo (m}^{-2}\text{)}}$$

A 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 per-

mitem 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 fotossíntese e tendem a apresentar maior produtividade econômica.

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

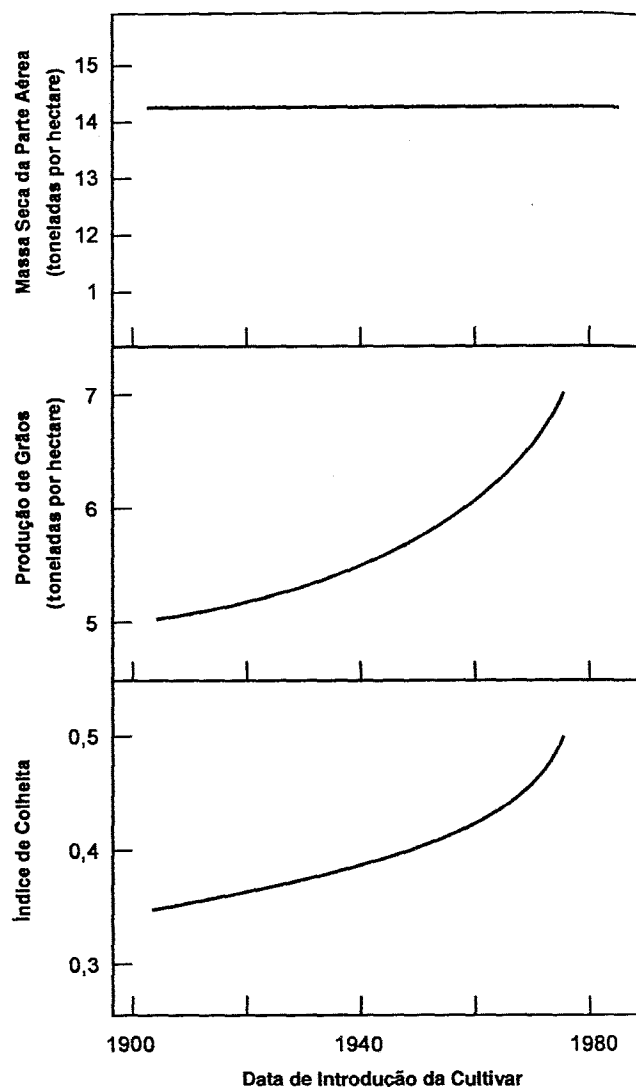


Fig. 5.51 Massa seca da parte aérea e índice de colheita em oito cultivares britânicos de trigo plotados de acordo com o ano de introdução de cada cultivar. O cultivo foi conduzido em solo fértil e com manejo intensivo. (Gifford *et al.*, 1982, modificado.)

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*, 1st 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, Conn EE (eds). *The Biochemistry of Plants*, 8:329-374, 1981.
- Maffei M. *Biochimica Vegetale*, 1^a 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, Hartmut 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, 4ª 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 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 translocado 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 floema, está localizado na parte mais externa da área vascular. O floema 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 unifor-

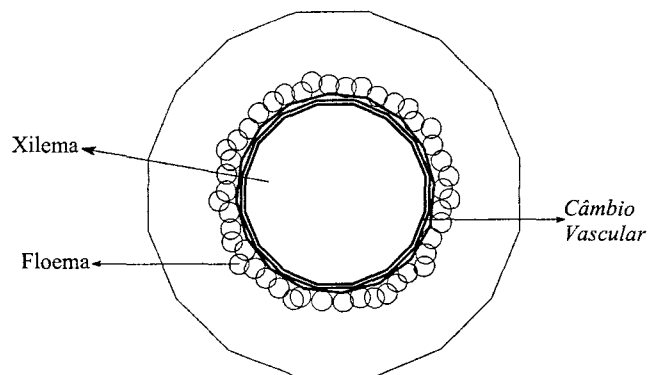


Fig. 6.1 Corte transversal de caule mostrando câmbio vascular e a diferenciação em floema (para o exterior) e xilema (para o interior).

me 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 formação de esqueletos de carbono.

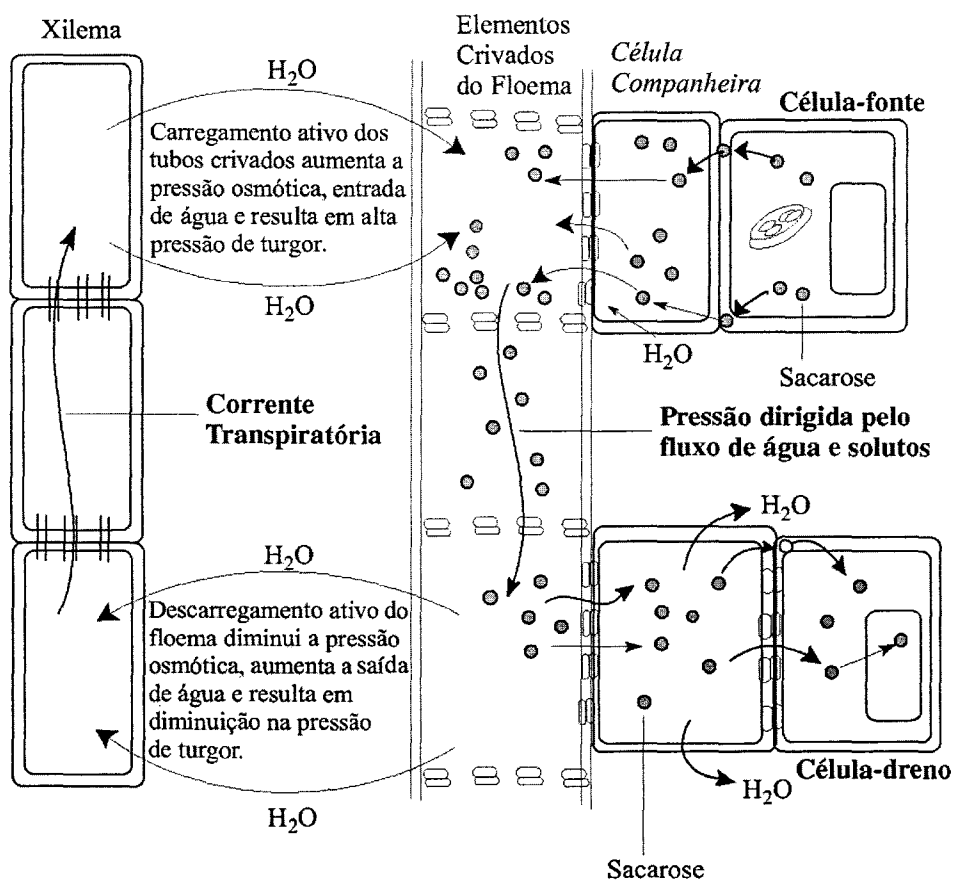


Fig. 6.2 Diagrama esquemático do modelo de fluxo de pressão entre células-fonte e células-dreno através do xilema e floema. (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2003.)

É interessante ainda observar, na Fig. 6.2, que a água que se desloca para a parte superior do feixe vascular pode-se deslocar 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 se desenvolver 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.

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.

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 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 plasmodesmos 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 subs-

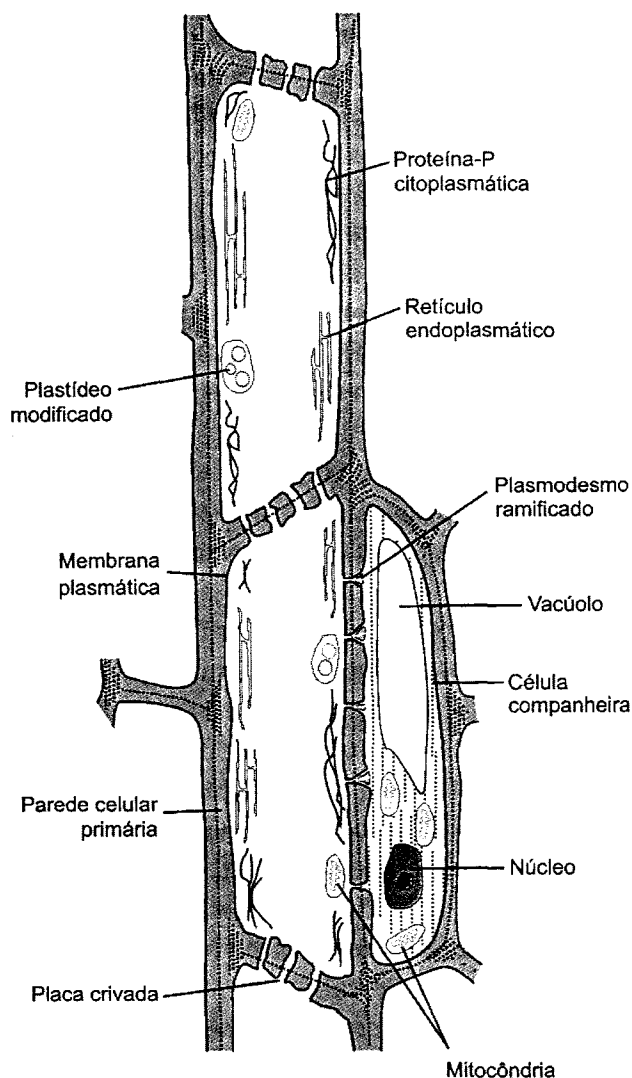


Fig. 6.3 Constituição dos elementos crivados e células companheiras. (Adaptado de Taiz e Zeiger, 2003.)

tituídos 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 protofloema. 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 *plasmodesmo*, 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 plasmodesmo 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 reentrân-

cias, 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 (Giaquina, 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 estaquiase, 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 mesofilo, 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 como na parte aérea, nutrientes e água podem se deslocar desde a parte mais externa (epiderme) até o parênquima vascular, tanto por via apoplástica como por via simplástica (Fig. 6.5).

Apoplasto

O apoplasto 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 *apoplasto*, é o mesmo espaço descrito pelos que trabalham

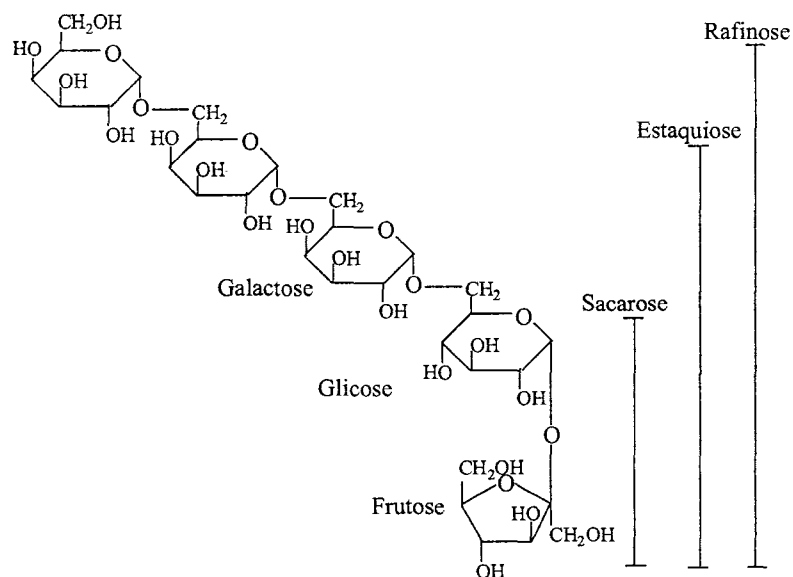


Fig. 6.4 Variedade de açúcares encontrados na seiva do floema: monossacarídeos (galactose, glicose e frutose), dissacarídeo (sacarose), oligossacarídeos (rafinose e estaquiase).

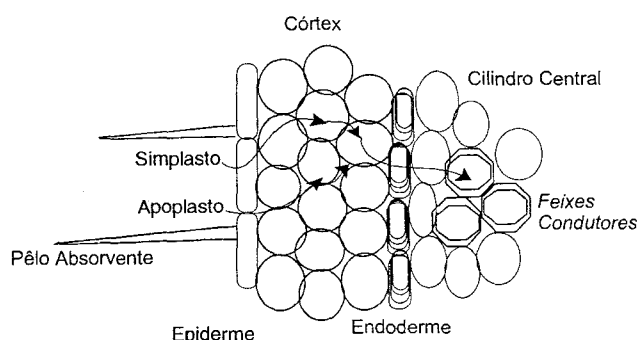


Fig. 6.5 Corte radicular transversal mostrando o apoplasto e o simplasto através das células do córtex e endoderme.

com nutrição mineral de plantas como *espaço livre aparente*.

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 plasmalema e circulando no espaço livre (apoplasto). Esse movimento no apoplasto pode ocorrer desde as células do mesofilo até as células companheiras ou as células do elemento crivado. Esse seria um movimento totalmente apoplástico.

Simplasto e plasmodesmo

A outra forma de deslocamento de nutrientes é a que ocorre célula a célula, através de conexões entre os protoplastos, chamadas de plasmodesma ou plasmodesmo (Fig. 6.6). Nesse caso, tanto os açúcares

como os nutrientes minerais como o K^+ podem se deslocar livremente sem que ocorram interações do tipo das que ocorrem no espaço livre de Donnan.

Plasmodesmos 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.

As conexões célula a célula via plasmodesmos permitem que ocorra o transporte através dos protoplastos, denominado de via simplástica (Fig. 6.6). 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 plasmodesmos entre as superfícies de células adjacentes ao longo do contínuo mesofilo \rightarrow sistema crivado. Presume-se que, quanto maior o número de conexões plasmodesmáticas entre as células, maior o potencial de transporte na interface.

Sobre o plasmodesmo, Gunning (1976) observou: "O plasmodesmo eleva a planta da condição de simples coleção de células individuais para uma comunidade de protoplastos vivos e interconectados."

A frequência dos plasmodesmos 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 plasmodesmo ocupa 0,38% das paredes celulares adjacentes, com uma frequência de $300 \mu m^2$ por parede. A magnitude do fluxo de açúcares através do plasmodesmo, em poros com comprimento de

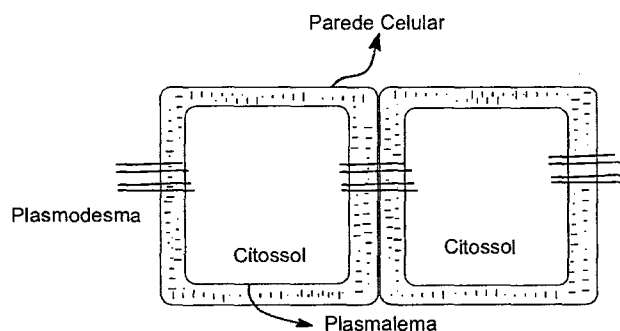


Fig. 6.6 Plasmodesma unindo o citossol de duas células através da plasmalema e parede celular.

0,5 e 20 μm de diâmetro, seria então de $3,8 \times 10^{-21}$ mol.sec $^{-1}$.

Na planta C_4 *Salsola ali*, a frequência de plasmodesmo é de $14 \times 18^8 \text{ cm}^{-2}$ de parede celular. Isso significa que 0,1% da parede celular tangencial é ocupada com os canais dos plasmodesmos.

Plantas como *Vicia*, beterraba e milho apresentam pouca ligação direta entre as células do mesofilo e as células do complexo EC/CC via plasmodesmo, enquanto, em outras plantas, como *Curcubita 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 plasmodesmos 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 plasmodesmos entre as células do *complexo crivado* e as células adjacentes:

- ◆ 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.

A frequência de contatos via plasmodesmos 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 trans-

porte – 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 fotossimilados 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 importante 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 plasmodesmos. 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 apoplasta (espaço livre), e entrariam no sistema por transporte através da plasmalema de uma célula companheira ou diretamente, através da plasmalema de uma célula crivada.

A Fig. 6.7 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 plasmodesmo. 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. 6.7), açúcares possam sair do interior das células para o apoplasto. 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 apoplasta 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.

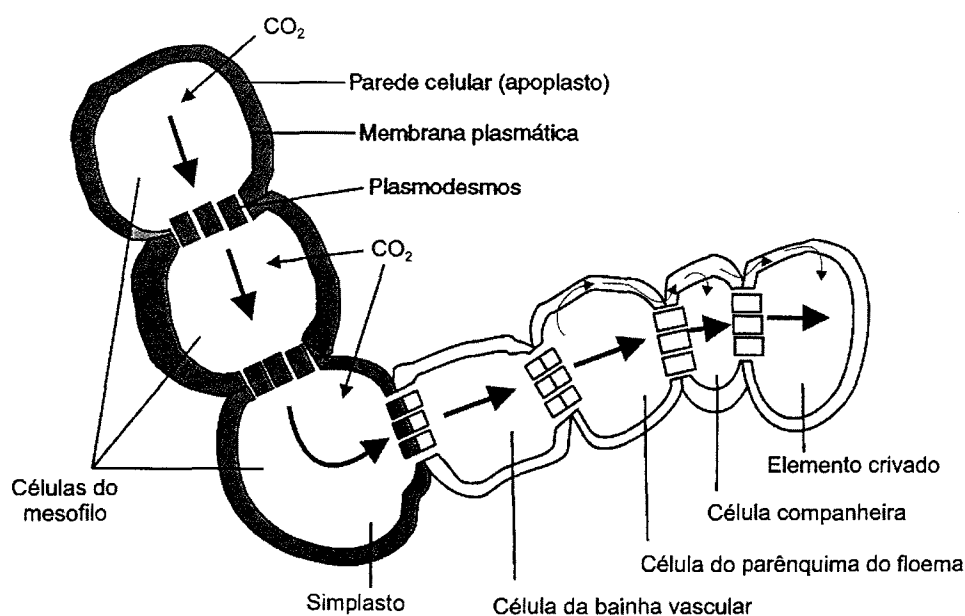


Fig. 6.7 Diagrama esquemático da possível via de carregamento do floema em células foliares-fonte.

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 simplasto, desde as células do mesofilo até as células companheiras. No caso de não existir essa 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 plasmodesmos 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 plasmodesmo. 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 cm² 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 apoplasma.

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.

No caso de 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, estaquiose). Esses polímeros são muito grandes e não passariam através dos poros do plasmodesmo, o que impediria seu retorno ao sistema transportador. Assim, o transporte de açúcares no simplasto seria unidirecional (mesofilo → complexo crivado), e contra o gradiente de con-

centração 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 plasmodesmos. 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 apoplasto 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

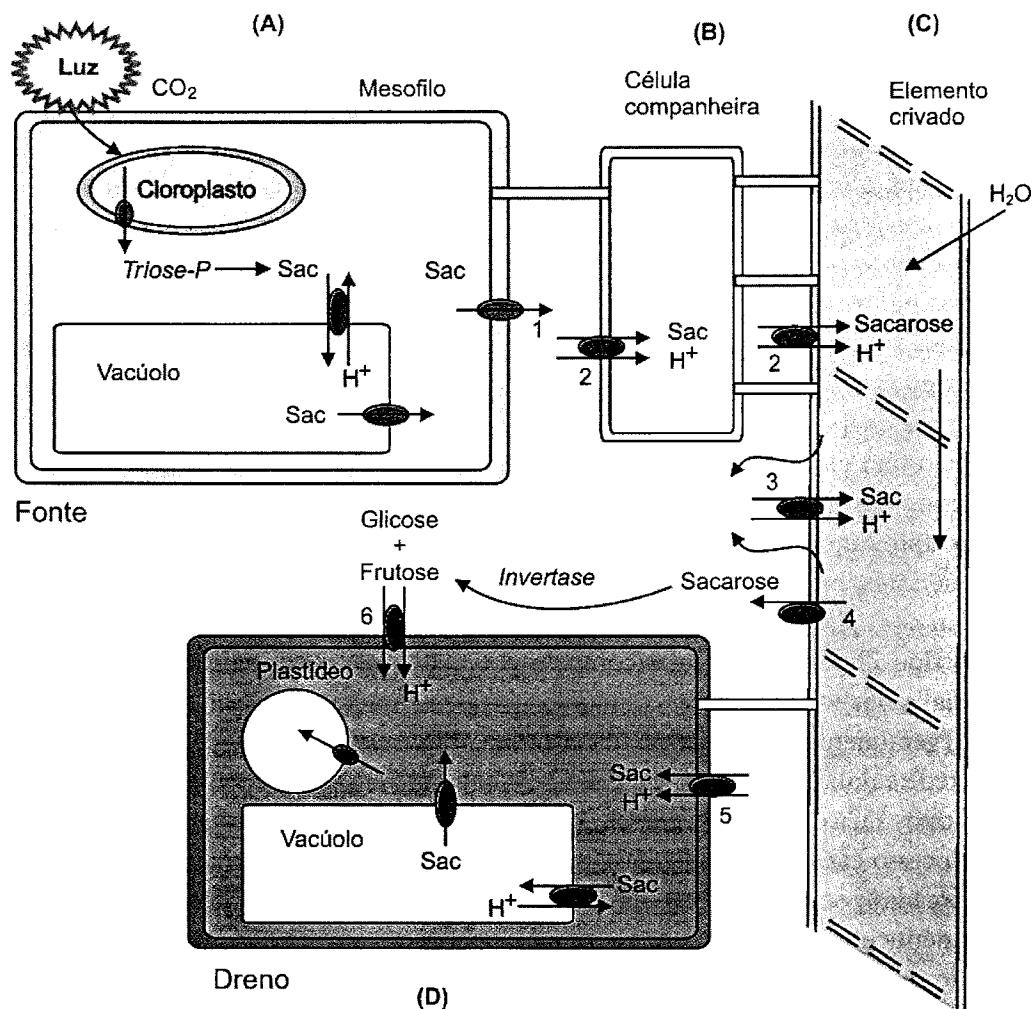


Fig. 6.8 Esquema geral do carregamento e descarregamento do floema: (A) fonte; (B) célula companheira; (C) elemento crivado do floema; (D) dreno.

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

$$1:100 \quad \Delta G = 2,68 \text{ Kcal/mol}$$

$$1:1.000 \quad \Delta G = 4,02 \text{ Kcal/mol}$$

Vale lembrar que a hidrólise de 1 mol de ATP ($\text{ATP} + \text{HOH} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$) 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 apoplasto. 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 plasmalema. 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. 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*.

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 plasmalema, chamamos *potencial da membrana* (Ψ). 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 potencial através da membrana ($\Delta \Psi$). 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 geralmen-

te 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 au-

mento de pH do meio externo de 0,1 a 0,2 unidades 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 unidades 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 Munch 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).

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 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, são 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 $16 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$, o que permite os fluxos através do sistema de $3,2 \text{ nmol}$ de sacarose por cm^2 por minuto ($3,2 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$).

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. 6.8A).

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 com-

panheiras que geram a energia para esse transporte. Observa-se ainda que, na Fig. 6.8, 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:

- a) entre células do mesofilo
- b) das células do mesofilo para a proximidade das nervuras
- c) das proximidades da nervura para as células do floema.

A Fig. 6.8 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. O fluxo de solutos 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-motiva 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 apoplasto 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.

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, estaquiase). Também são encontrados açúcares modificados, como o sorbitol e o manitol, que são derivados alcoólicos (Fig. 6.9).

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.

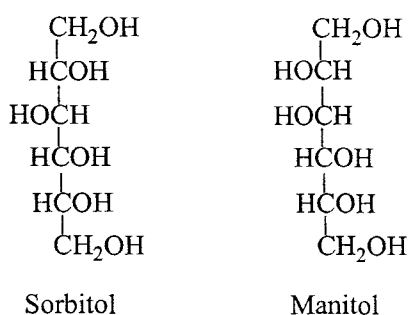


Fig. 6.9 Açúcares-alcoóis: sorbitol e manitol.

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 alantoína.

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 (R-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 translocadas para outras partes da planta. Essas proteínas têm peso molecular entre 20 e 60 kD, 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 plasmodesmo. 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 *Cucurbita maxima* mostram a existência de transporte nos plasmodesmos 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 circu-

lam 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 cm².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 cotransporte K⁺/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 apoplasto 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 apoplasto 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 apoplasto.

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 autoradiografia, 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. 6.10). 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.

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. 6.10).

A atividade das folhas como fonte para a parte inferior (raízes) e para a parte superior da planta (bro-

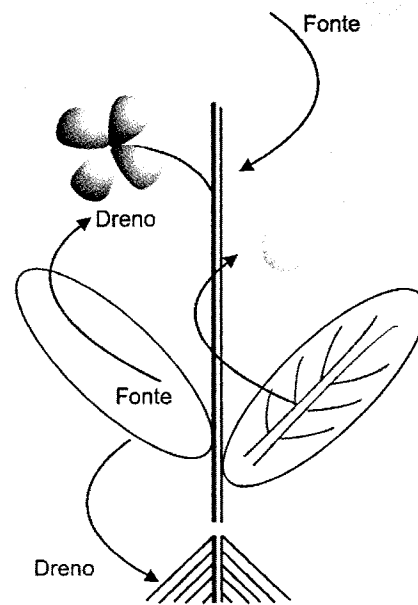


Fig. 6.10 Modelo esquemático fonte-dreno: folhas mais velhas e outras folhas são fontes para o desenvolvimento de flores e frutos (drenos).

tos) 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. 6.10). 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.

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 foto-assimilados 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. 18, 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. 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 10º e 20º 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, enquanto, 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. 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

- 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.
- 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*. Spring 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 GA, Schulz A. Macromolecular trafficking in phloem. *Trends in Plants Science*, 1999; 4(9):354-360.
- Turgeon. Symplastic phloem loading and the sink-source transition in leaves: a model. *Plant Physiology*, 1991; 96:18-22.

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.
- 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.

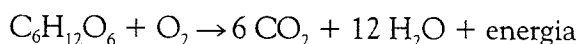
CAPÍTULO 7

Respiração

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

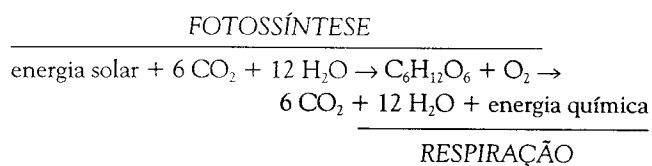
INTRODUÇÃO

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), além de utilizar a energia contida nesses compostos para o desenvolvimento e manutenção de seus corpos. Em 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 mostrado, 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 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).

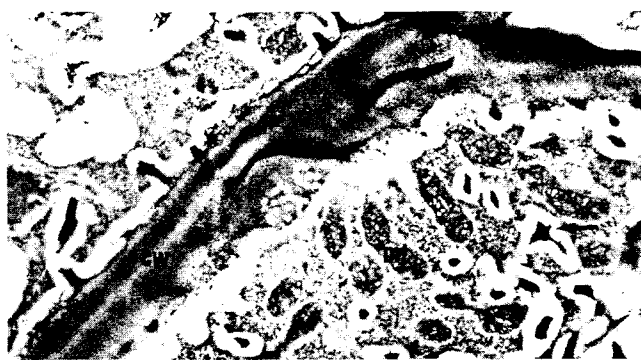


Fig. 7.1 Fotomicrografia mostrando células de transferência em cotilédones de *Lupinus angustifolius*. Nesse momento, os cotilédones estão mobilizando reservas e há grande produção de sacarose e aminoácidos. Esses compostos têm que ser transportados para a plântula em crescimento, pois o cotilédone irá 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.)

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). Esse 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; estes últimos são ainda organizados de forma a produzir o organismo inteiro.

Todos os níveis supracitados 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; e este

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 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 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 dessa hexose pode variar de tecido para tecido, mas isso está diretamente relacionado com a alocação de recursos e balanço de carbono e será abor-

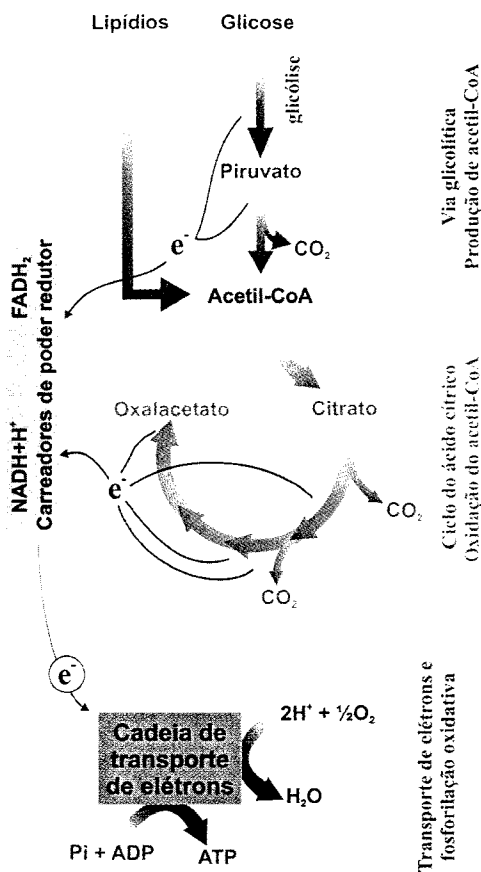


Fig. 7.2 Visão bioquímica geral do processo respiratório. A respiração é dividida em três fases: via glicolítica, ciclo do ácido cítrico (ou ciclo de Krebs) e cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa. O esquema ressalta o fato de que os carreadores de elétrons são produzidos nas duas primeiras fases e utilizados na cadeia de transporte de elétrons onde ocorre a maior produção de ATP e a redução do oxigênio.

dado adiante. Na fase citossólica da respiração, denominada glicólise, a glicose é parcialmente degradada a piruvato (Fig. 7.2). Essa degradação parcial pode ocorrer tanto pela via glicolítica quanto pela via das pentoses (Fig. 7.6), e, 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 os seus pontos de controle altamente regulados por indicadores do estado energético da célula, como, por exemplo, a razão ADP/ATP (Tabela 7.2). A 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 re-

TABELA 7.1 Balanço 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	

CTE = Cadeia de Transporte de Elétrons
 CAT = Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos

duzido nas demais etapas da respiração, cuja finalidade é essencialmente a 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 6 carbonos e atinge um estágio intermediário em que são formadas duas moléculas de 3 carbonos (o gliceraldeído 3-fosfato). Nessa 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. Essa 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

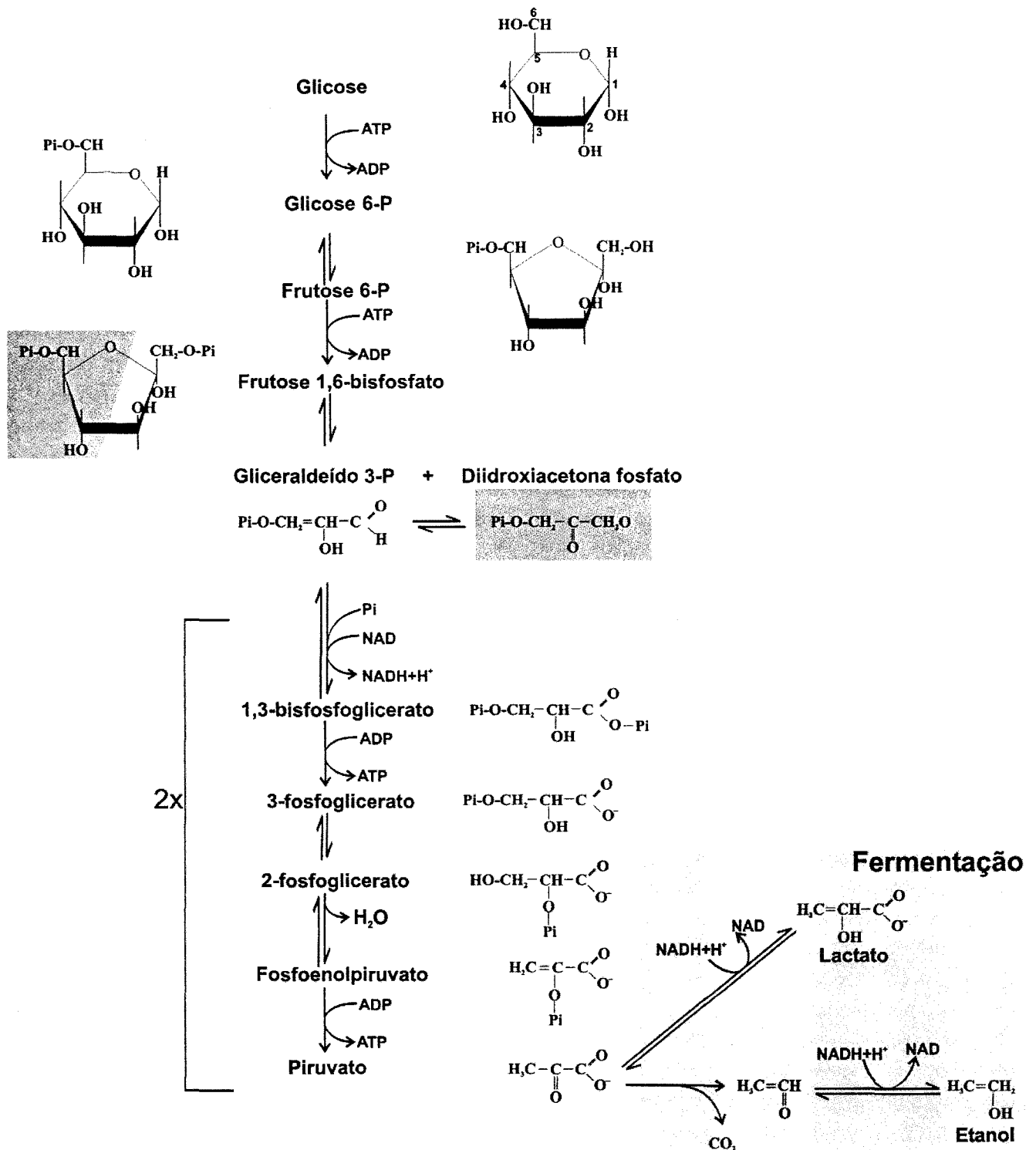


Fig. 7.3 Via glicolítica da respiração em plantas. Ao lado dos nomes dos compostos, são apresentadas suas respectivas fórmulas. Note que essa via consiste em fragmentar a glicose de modo a produzir compostos de 3 carbonos; no final, o piruvato que entra na mitocôndria servirá de substrato para o ciclo de Krebs. Na falta de oxigênio, o piruvato pode ser reduzido a lactato ou então descarboxilado, produzindo etanol; esse processo é chamado de fermentação.

citossólica) pode representar uma importante fonte de energia em algumas situações (Tabela 7.1).

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. Isso 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, na qual é metabolizado. O CAT ocorre na matriz mitocondrial, e, nele, o ácido orgânico é oxidado completamente a CO_2 (Fig. 7.4). Após sua importação, o piruvato

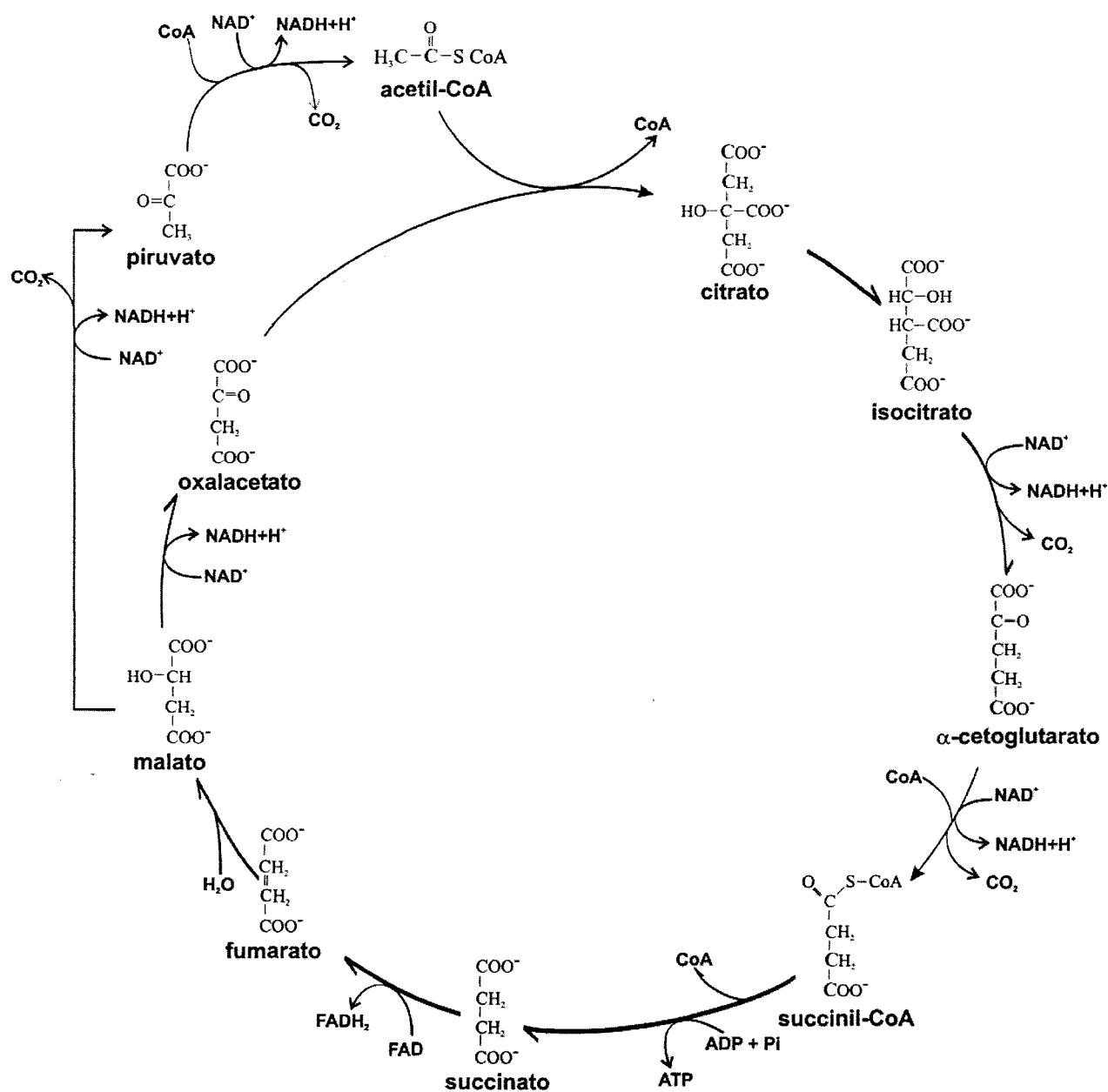


Fig. 7.4 Ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ou ciclo de Krebs), importante para a produção de compostos redutores que irão atuar na cadeia de transporte de elétrons e também na produção de esqueletos de carbono para a síntese de diversos compostos celulares. O ciclo tem início com o piruvato produzido pela glicólise, e as reações subsequentes ocorrem na matriz mitocondrial (ver Fig. 7.5A). Os carbonos em vermelho são provenientes do acetil-CoA.

sofre uma descarboxilação (perda de CO_2), gerando um radical acetil ligado à coenzima A (acetil-CoA). Esse 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 CO_2 , 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 $\text{NADH}+\text{H}^+$ e FADH_2 , 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 nucléicos, lipídios, proteínas e compostos secundários.

Através da via das pentoses, são produzidas moléculas de açúcares de 5 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. 9, 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. 10, Giberelinas, e 11, Ácido Abscísico).

Mais à frente, no CAT, o α -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 áci-

do indolil-3-acético (AIA), fitormônio com papel proeminente no desenvolvimento das plantas (ver Cap. 8, 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*. Esse processo ocorre nas cristas (membranas internas) mitocondriais (Fig. 7.5A).

Nesse processo, os elétrons são transferidos para complexos protéicos que possuem potencial de oxido-redução cada vez mais baixos. 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 dessa 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 dessas proteínas envolvidas no transporte de elétrons, a membrana

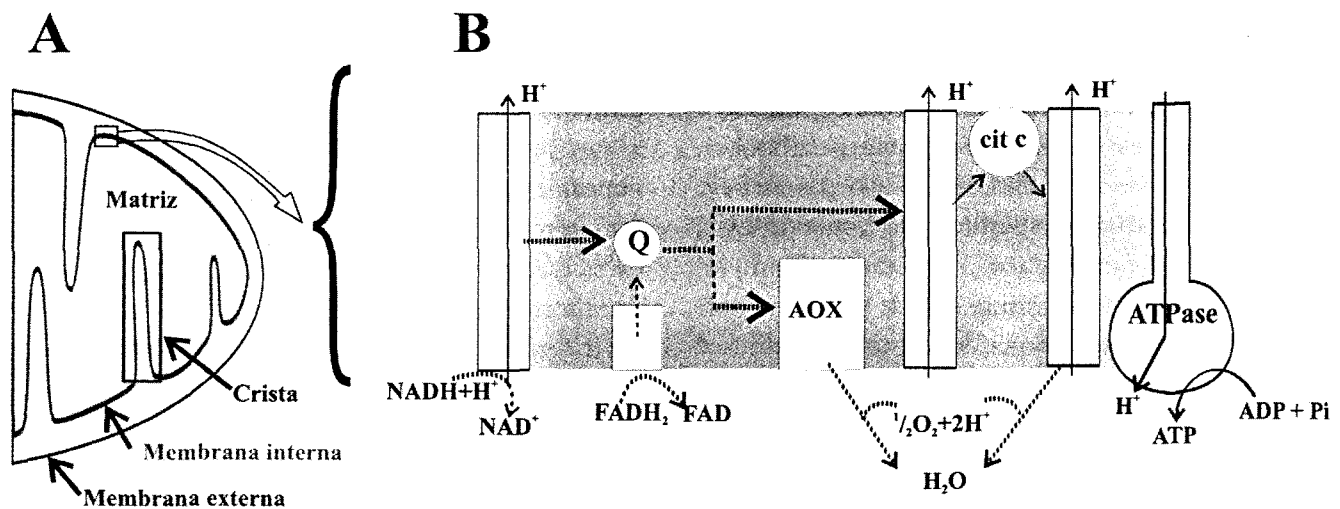


Fig. 7.5 Cadeia de transporte de elétrons (B). Os compostos redutores produzidos nos outros passos da respiração (glicólise e ciclo de Krebs) são utilizados por complexos protéicos que transferem os elétrons até a redução do oxigênio e a formação de água. Esse processo ocorre na membrana interna da mitocôndria (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).

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, 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 conhecido como um potente e perigoso agente que pode levar animais à morte rapidamente. No entanto, essa 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, esse 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 em 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 já descrito, a cadeia de transporte de elétrons é a parte responsável pela produção da maior quantidade de ATP (Tabela 7.2).

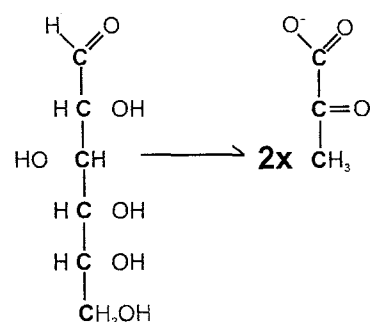
Essa situação pode ocorrer em raízes, quando o solo é inundado, por exemplo. Nesses tecidos, o fluxo de carbono é desviado no final da via glicolítica e o piruvato é reduzido pela enzima desidrogenase do lactato, produzindo lactato (Fig. 7.3). Esse estado metabólico, no entanto, não pode ser mantido prolongadamente, pois o acúmulo de lactato leva à acidificação do citossol e, eventualmente, à morte da célula. Para evitar essa 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 conseqüências metabólicas, uma

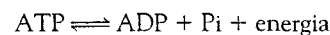
TABELA 7.2

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 de fosforilação do ADP, desde que haja uma fonte de energia:



3) A razão ADP/ATP é importante porque funciona como 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.

vez que, sem a cadeia de transporte de elétrons, apenas as 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 conseqüências 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 $\text{NADH} + \text{H}^+$, gerando NAD, que pode ser utilizado no ciclo do ácido tricarboxílico, 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).

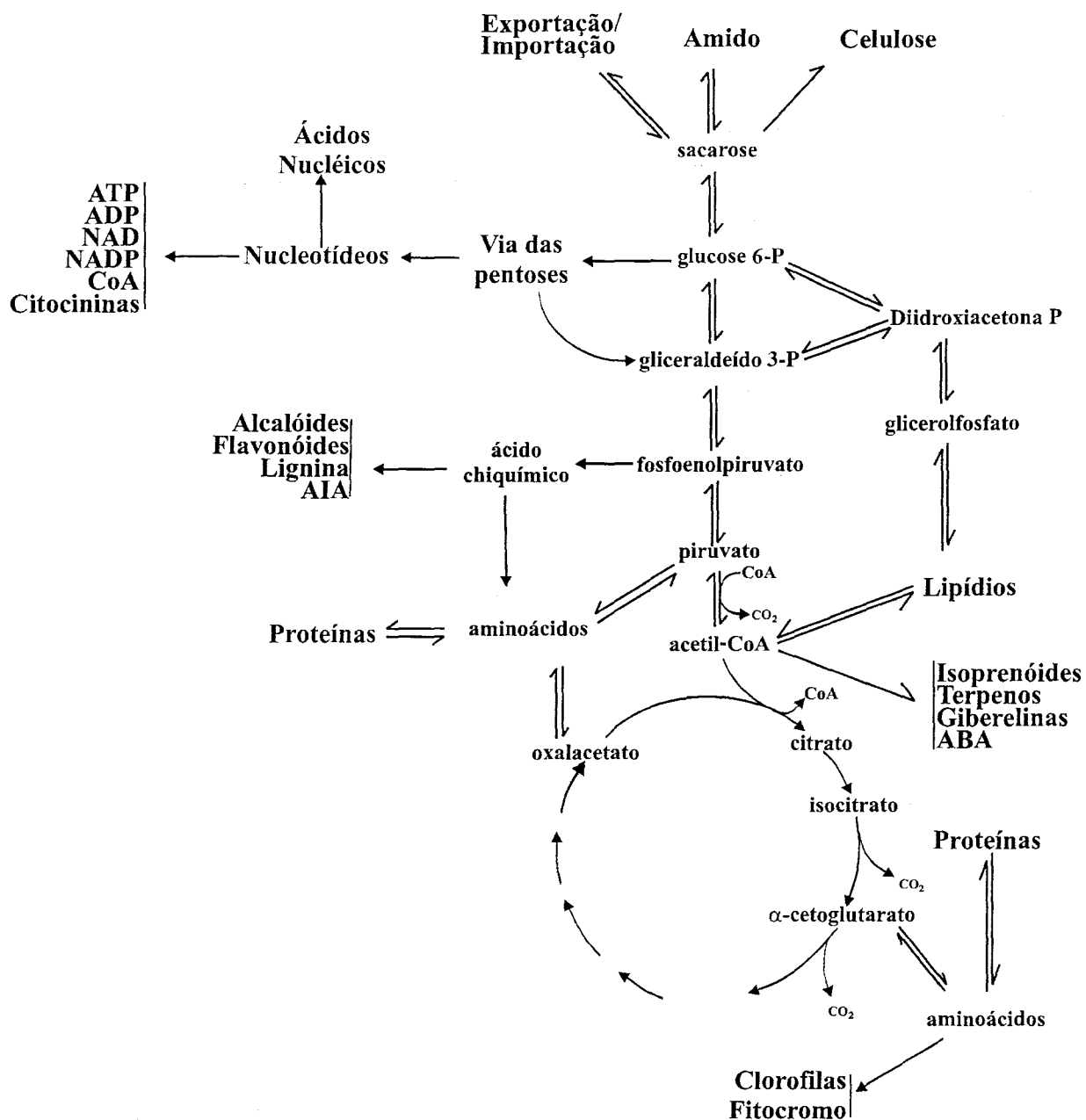


Fig. 7.6 Relações entre o processo respiratório e outras vias do metabolismo de carbono nos vegetais. Note que as principais substâncias do metabolismo estão ligadas, direta ou indiretamente, ao metabolismo respiratório. Todos esses compostos têm que ser produzidos em maior ou menor intensidade durante 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 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 energia no processo seja constante em to-

das 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, depen-

dendo da função da célula em determinado órgão, alguns produtos podem se apresentar 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 crescimento dos tecidos vegetais. Assim, em determinado órgão, pode estar ocorren-

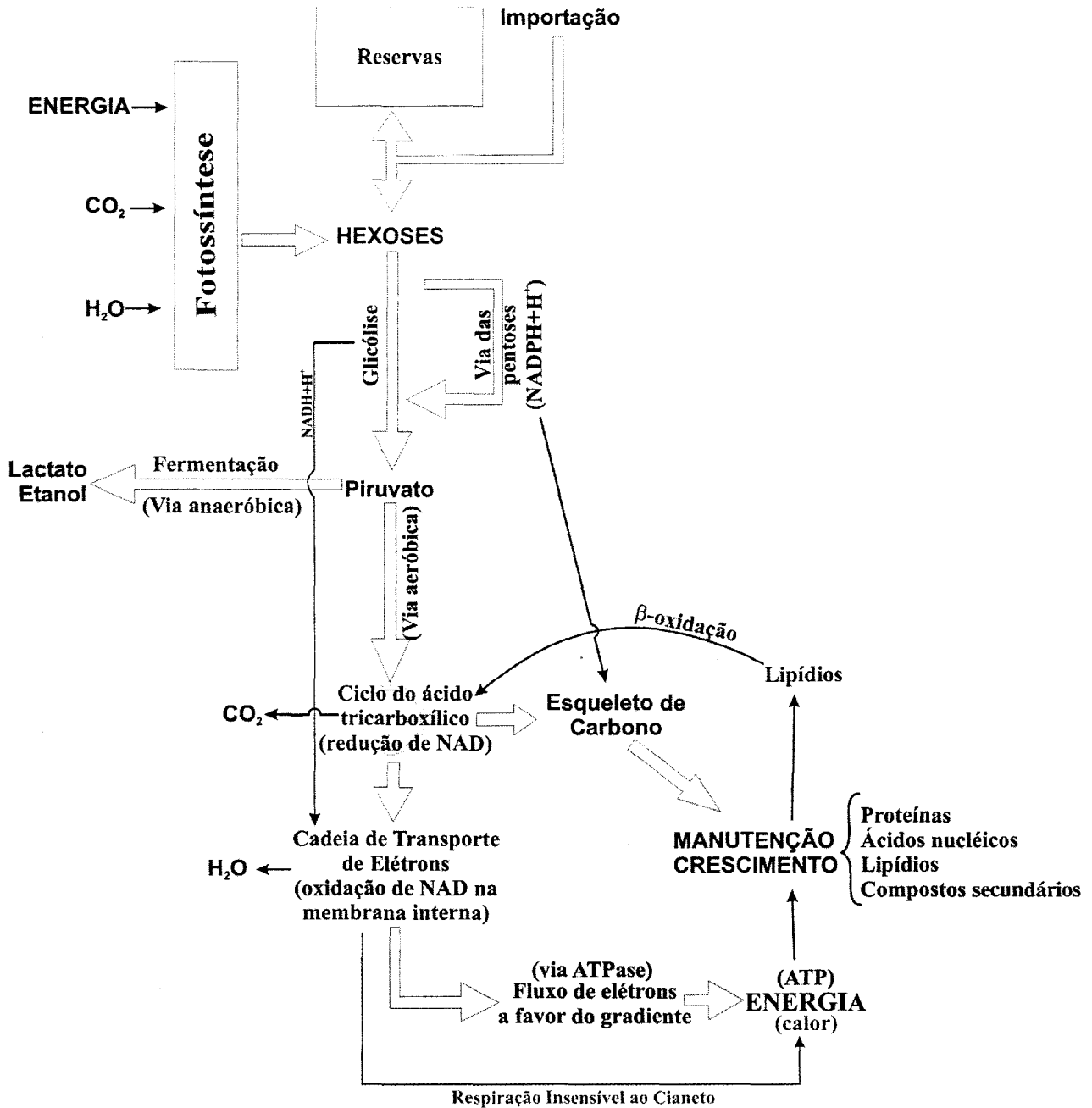


Fig. 7.7 A figura ressalta as relações entre a respiração e a fotossíntese, por um lado, e os eventos ligados à manutenção e crescimento, por outro. Embora o carbono entre na planta exclusivamente através da fotossíntese, nem todos os tecidos são fotossintéticos. Por isso, há a necessidade de acúmulo 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 funcionamento celular.

do 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 dado momento, estar voltado para a produção de compostos do metabolismo secundário, como, por exemplo, no caso de ataque de um patógeno.

Essa flexibilidade de resposta aos ambientes 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 determinada via pode ser feito diretamente por inibição ou ativação de uma enzima por um co-fator, pelo próprio substrato da enzima ou complexo enzimático, ou, ainda, pela ação de fitormônios que podem levar a alterações na transcrição de genes, alterando as demandas de compostos por 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 já feitas: 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, via de regra, 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 das folhas, que são os órgãos responsáveis pela fotossíntese (ver Caps. 6, Transporte no Floema, e 18, 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 simples: raízes primárias e jovens têm meristemas em contínuo processo de alongamento e diferenciação, processos esses 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 o processo respiratório advém principalmente do próprio solo, podendo vir também da parte aérea. No primeiro caso, há a necessidade de o solo 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* (ex.: *Avicenia nitida* e *Rhizophora mangle*). Outras plantas podem apresentar respiração anaeróbica (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 (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) 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 se difunde pelas células caulinares. Alguns tipos de caule podem apresentar estruturas conhecidas como *lenticelas* (Fig. 7.8), que facilitam as trocas gasosas com o meio. Em cactáceas, porém, as trocas gasosas só ocorrem à noite, com a abertura dos estômatos (ver Plantas MAC no Cap. 5, Fotossíntese).

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 (ex.: *Nymphaea*, *Victoria amazonica*).

Folhas

De todos os órgãos vegetais, as folhas são os que mais realizam trocas com o ambiente. Os estômatos

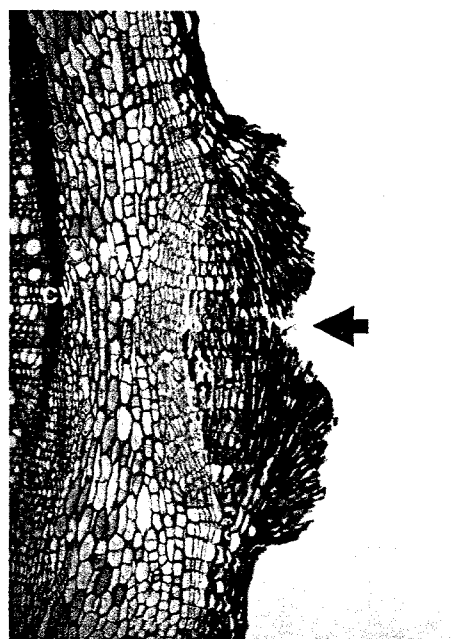


Fig. 7.8 Lenticela (seta) do caule de sabugueiro (*Sambucus*). Tal estrutura facilita a entrada e a conseqüente chegada do oxigênio às células do câmbio vascular (cv), que se dividem intensamente durante o crescimento secundário. Na parte em vermelho à direita, a abertura central (seta) é tida como um local de entrada de oxigênio. (Foto = Solange Mazzoni-Viveiros.)

(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 10 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 alguns vegetais, quando a folha está próxima da abscisão, há um aumento expressivo na taxa respiratória que diminui algum tempo antes de a folha cair. Esse fenômeno está possivelmente relacionado com a reabsorção de compostos (por exemplo, íons, aminoácidos e açúcares), com o seu armazenamento como reserva caso a planta esteja adaptada a ambientes com variações sazonais (biomas de regiões tem-

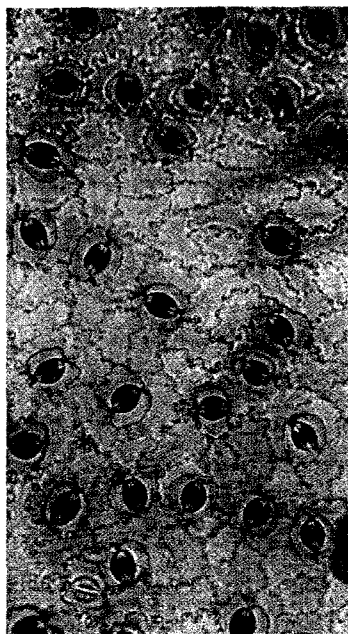


Fig. 7.9 Fotomicroscopia mostrando a superfície abaxial (inferior) de uma folha de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). Em amarelo são as células da epiderme e, em azul-escuro, as células-guardas dos estômatos, tendo ao lado de cada uma células levemente esverdeadas, chamadas de células companheiras. Nas folhas, as trocas gasosas ocorrem predominantemente nos estômatos. (Foto = Paula F. Costa, Solange Mazzoni-Viveiros e Marcos S. Buckeridge.)

peradas e no cerrado, por exemplo), ou pode ser diretamente incorporado 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, 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 (fotossíntese) 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 fotossíntese, 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 pentose-fosfato (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 nucléicos e carboidratos. Essa via, além de produzir CO_2 , ainda regenera alguns carboidratos que podem voltar à glicólise e, posteriormente, ser 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 esse 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 formado o fruto, a alocação de nutrientes e a produção dos diversos tipos celulares que armazenam 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 esse procedimento comumente utilizado para fins comerciais. Outros frutos não apresentam climatério e, mesmo adicionando-se etileno, não ocorre tal fenômeno. Isso 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 se mantenha 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 como maçã, colhidos em março-abril (no Brasil), podem manter suas propriedades inalteradas por até um ano.

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 imbebição, o metabo-

lismo celular é reativado. Essa reativação metabólica provoca uma série de mudanças fisiológicas (ver Cap. 17, 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, 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 rafínósica (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 armazenar esses compostos é o acesso rápido, uma vez que são solúveis e estão presentes no citoplasma e disponíveis para uso imediato. Com isso, logo após a imbebição, a semente perde massa, libera CO_2 , produzindo a energia necessária para o desenvolvimento inicial da nova planta. Essa 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 (jatobá) que serão utilizadas também na produção de energia pela via respiratória.

Alguns tipos de sementes germinam com pouco oxigênio 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 esse processo anaeróbico a única alternativa para essas sementes liberarem 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. Esses 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 desses 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 esse processo é extremamente variável e dependente de condições ambientais cíclicas (luz e temperatura). Nesse 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. Nesse 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 compostos 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 (Tabela 7.3).

Em sementes, a degradação das reservas ocorre rapidamente, e isso aumenta, intensamente e de forma transitória, a disponibilidade de substrato para a respiração. Isso 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 essa estratégia de estabelecimento e adapta-

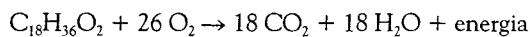
TABELA 7.3 Quociente respiratório

Quociente respiratório é a relação entre a quantidade de moléculas de gás carbônico liberada 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, é $QR = 1,0$ para a glicose. Isso acontece porque, na molécula de glicose, o número de átomos de oxigênio é igual ao de átomo de carbono.



$$QR = \frac{6 CO_2}{6 O_2} = 1,0$$

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:



$$QR = \frac{18 CO_2}{26 O_2} = 0,69$$

Quando o QR é maior do que 1,0, há indicação de que o substrato ou é rico em oxigênio (ácido oxálico - $2 C_2H_2O_4$ - $QR = 4,0$), ou está ocorrendo respiração anaeróbica, já que, em anaerobiose, o consumo de oxigênio é nulo!

ção 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 a 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.

Quantidade de oxigênio

A concentração de O_2 no ar (21% de oxigênio) é de aproximadamente $265 \mu M$. Por outro lado, a K_m ¹ da enzima que usa o oxigênio, a oxidase do citocromo *c*, é de aproximadamente $1 \mu M$. 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 10 mil vezes menor do que no ar. Nesse caso, a taxa de difusão pode ser um problema, pois sabe-se que tensões de oxigênio menores do que 5% podem ser limitantes para a respiração.

Aparentemente, as plantas solucionaram esse problema desenvolvendo rotas gasosas de difusão através de espaços intercelulares. Nesse caso, a limitação de difusão deixa de ser importante e permite que o oxigênio 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 , 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 aí 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 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 vasculares 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 e $25^\circ C$, dobra a taxa respiratória devi-

¹Constante de Michaelis, que mede a afinidade de uma enzima por seu substrato – quanto menor a K_m , maior a afinidade.

do ao aumento da atividade enzimática. Abaixo de 5°C, há uma diminuição drástica da taxa respiratória, enquanto, ao redor de 30°C, ocorre um aumento considerável, porém não tão rápido como na faixa de 5–25°C. Tal resultado é interpretado como decorrência do fato de o O₂ não se difundir com eficiência nessa temperatura. Temperaturas iguais ou superiores a 40°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 microorganismos sofrido por uma planta gera um aumento da sua taxa respiratória. Esse 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 nos 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 determinado órgão podem estar relacionadas com a quantidade, bem como com o tipo de substrato disponível para a respiração. O quociente respiratório (razão entre CO₂ liberado e O₂ consumido – ver Tabela 7.3) pode ser um bom indicador do tipo de substrato predominantemente utilizado. A variação da disponibilidade de substrato é uma das vias para 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 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 elétrons e, portanto, afetam indiretamente a respiração do tecido.

Quando se pensa em controle da respiração, as idéias 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 esse déficit. Quando os níveis de substrato aumentam, a respiração pode exceder a demanda por energia metabólica. Nessas condições, a atividade da rota alternativa do metabolismo respiratório (cianeto-resistente) é aumentada. Como visto anteriormente, essa via alternativa permite a oxidação dos substratos, redução dos agentes redutores (NAD[P]H, FADH₂) 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 a maior parte dessa energia direcionada para a renovação de proteínas e para manutenção do gradiente de íons através da membrana. A *respiração de crescimento* está relacionada com os processos biossintéticos (produção de biomassa). Esse tipo de respiração requer grande consumo de carboidratos para gerar ener-

gia (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, essas 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, e esses 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 interno das plantas. Para compreender melhor o funcionamento desses sistemas de comunicação, é importante conhecer os mecanismos de sinalização disparados pela luz ou por hormônios.

Além dos fatores limitantes para respiração já comentados, 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), podendo, em longo prazo, 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 (por exemplo, estresse salino, déficit hídrico e ataque de patógenos, altas concentrações de CO₂).

A ECOFISIOLOGIA E A RESPIRAÇÃO

A ecofisiologia pode ser definida como uma ciência experimental cujo objetivo é 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 tem 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 já mencionado, 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 3 a 10 vezes maior que a taxa respiratória relacionada à manutenção. Com isso, é possível inferir que as taxas respiratórias do conjunto de plantas em 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. Isso 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 essa taxa esteja diretamente relacionada à taxa de fotossíntese é tentadora, mas há evidências de que isso não ocorre sempre e em todos os casos. É certo que parte do carbono assimilado é transformado em carboidratos e irá servir como subs-

trato para a respiração, mas isso 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 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, seja para a produção de calor.

REFERÊNCIAS

- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Maryland, USA, American Society of Plant Physiology and Molecular Biology, 2000, 1367p.
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. *Plant Physiological Ecology*. New York, USA, Springer Verlag, 1998, 540p.
- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York, USA, Worth Publishers, 2000, 1157p.
- Rocha HP, Freitas H, Rosolem R, Juárez RIN, Tannus RN, Ligo MA, Cabral OMR, Dias MAFS. Measurements of CO₂ exchange over a woodland savanna (*Cerado Sensu Strictu*) in Southern Brazil. *Biota Neotropica*, V2, 2002 (www.biotaneotropica.org.br)
- Salisbury FB, Ross CW. *Plant Physiology*. Belmont, USA, Wadsworth Publishing Company, 1992, 682p.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc, Publisher, 1998, 791p.



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 decidida-

mente 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. 14, Movimento 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. 8.1). 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.

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

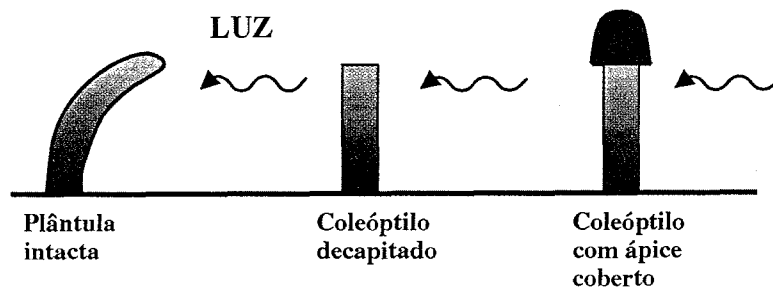


Fig. 8.1 Experimentos fototrópicos realizados por Darwin no século XIX com coleótilos de alpiste. Concluiu-se que um estímulo para o crescimento era produzido no ápice da coleótilo, sendo transmitido para a zona de crescimento; quando o ápice era cortado ou coberto, não havia curvatura.

“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 coleótilos decapitados. Assim, esse pequeno bloco de ágar, ao ser colocado assimetricamente sobre um coleótilo 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 coleótilo, resultando em uma curvatura (Fig. 8.2). 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 coleótilo de aveia” para esti-

mar a quantidade de auxina em uma amostra (Fig. 8.2). 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 coleótilos; como vere-

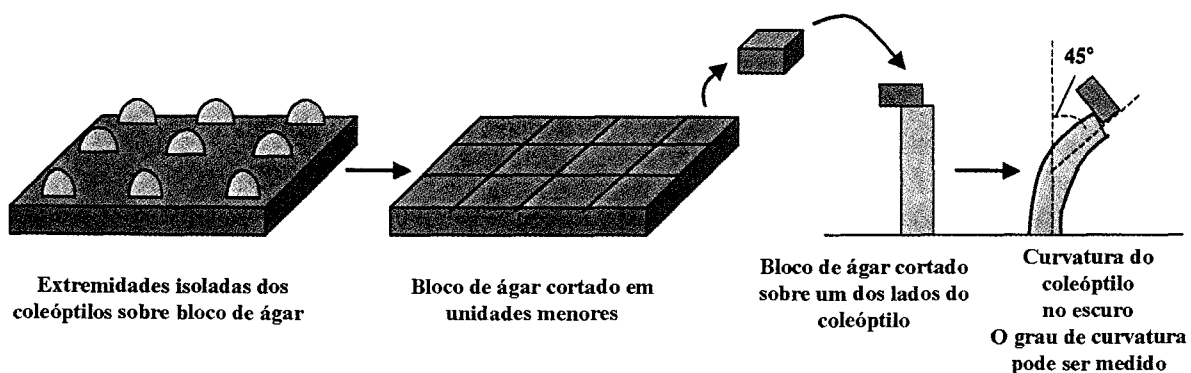


Fig. 8.2 Experimentos realizados por Went, em 1926, com coleótilos de aveia, onde se demonstrou a presença de uma substância promotora do crescimento, a qual era difusível em blocos de ágar e induzia a curvatura dos coleótilos proporcionalmente à sua concentração. Esse bioensaio ficou conhecido como “teste de curvatura do coleótilo de aveia”.

mos mais à frente, regulando 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. 8.3). 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 se converter em AIA livre (Bartel *et al.*, 2001).

Dentre as auxinas sintéticas (Fig. 8.4), 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, separada por uma distância de cerca de 0,5 nm, de uma carga positiva fraca proveniente do anel (Fig. 8.5). Essa separação de cargas é considerada como uma característica essencial para que um composto tenha atividade auxínica.

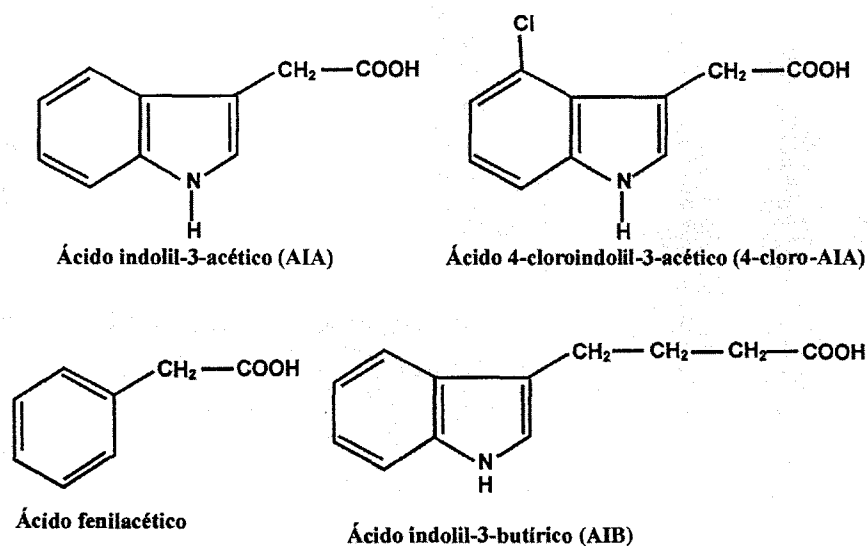


Fig. 8.3 Estrutura química das principais auxinas naturais encontradas nos vegetais.

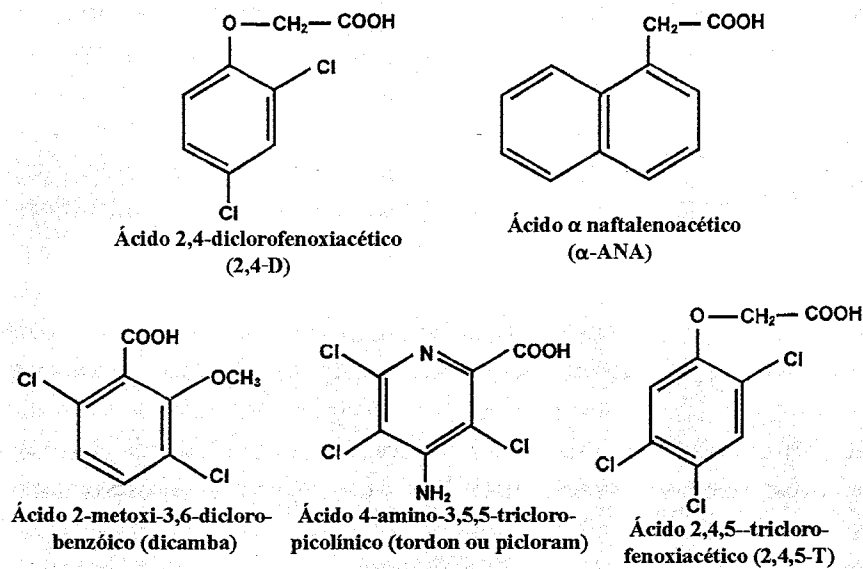


Fig. 8.4 Estrutura química de algumas auxinas sintéticas.

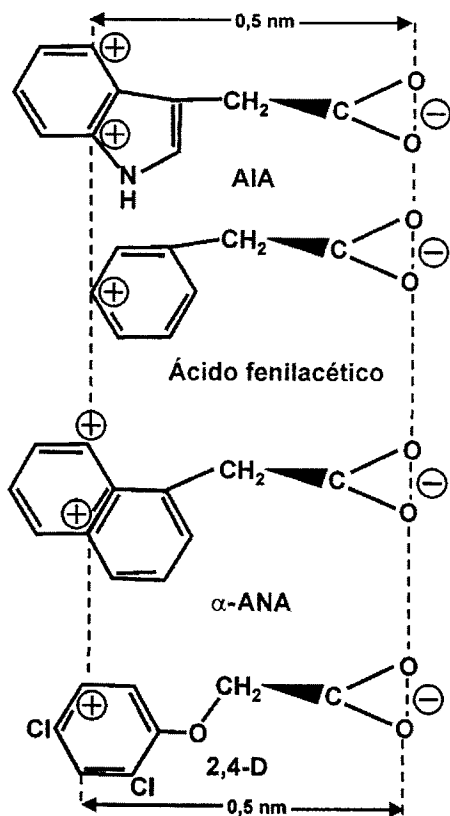


Fig. 8.5 Formas dissociadas de auxinas mostrando a separação de 0,5 nm entre a carga negativa do grupo carboxílico e a carga positiva do anel. Essa separação de cargas é essencial para que um composto tenha atividade auxínica.

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 de conversão (Fig. 8.6). 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 (IAId) e, finalmente, a oxidação do IAId 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 IAId e, depois, em AIA. Uma terceira via conver-

teria 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 embri-

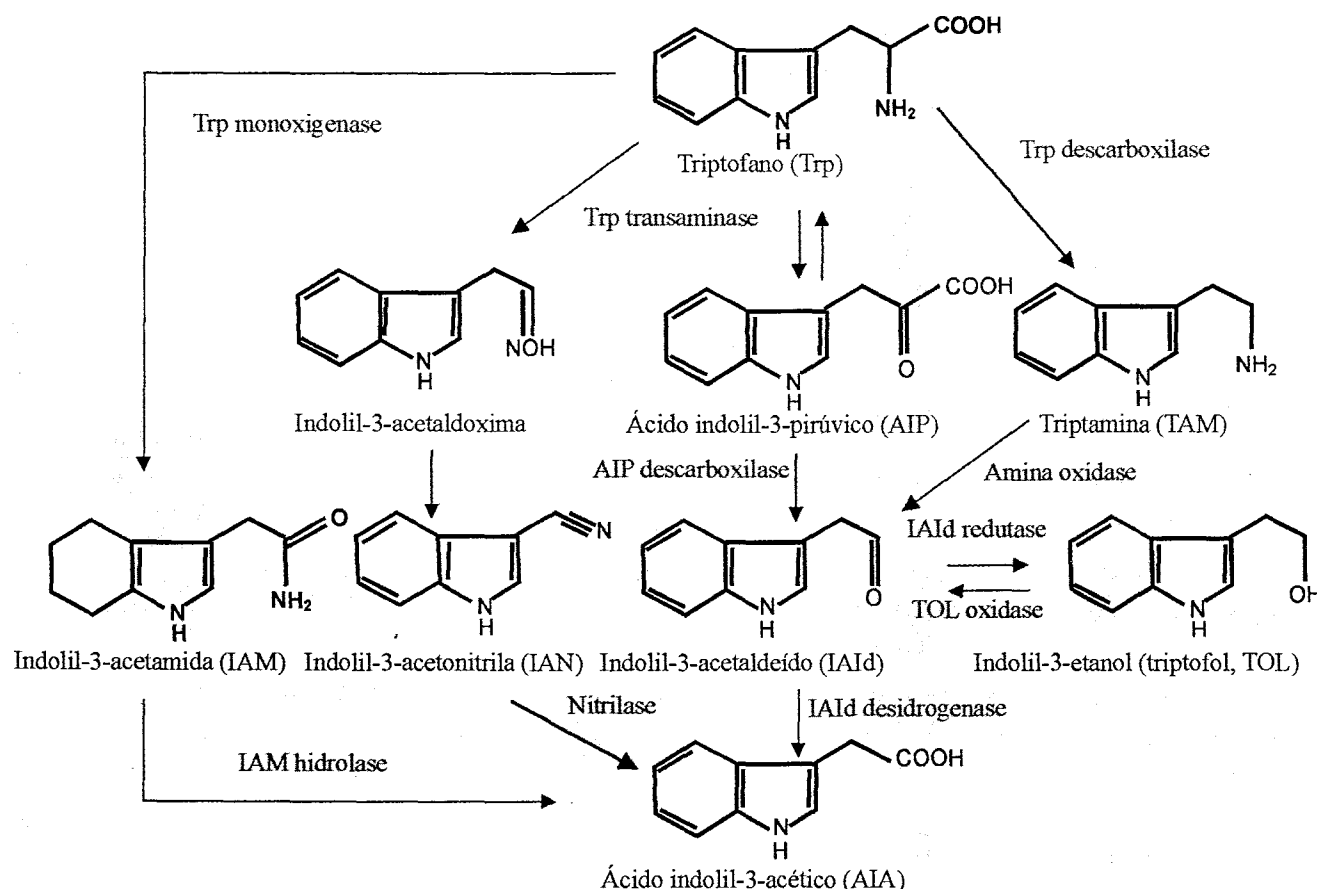


Fig. 8.6 Rotas biossintéticas de AIA dependentes de triptofano.

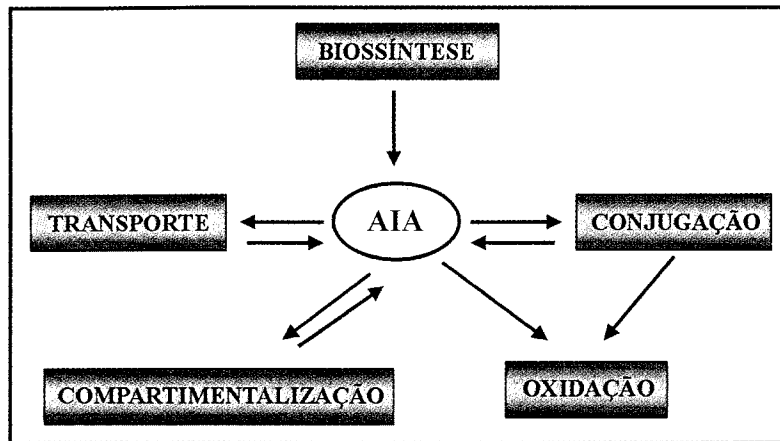


Fig. 8.7 Mecanismos reguladores dos níveis de AIA livre nas células vegetais.

ogênese ou da germinação de sementes, enquanto que 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. 8.7).

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. 8.8). 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

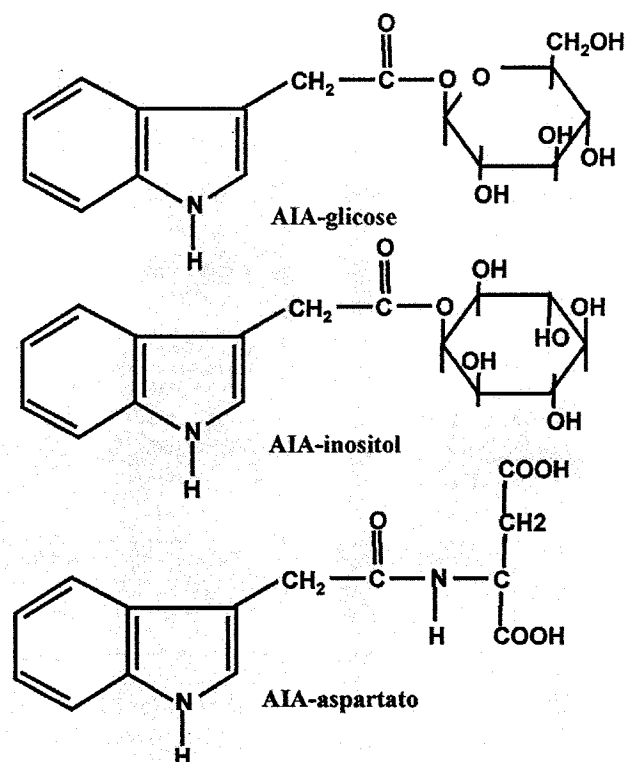


Fig. 8.8 Estrutura química de três auxinas conjugadas.

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 con-

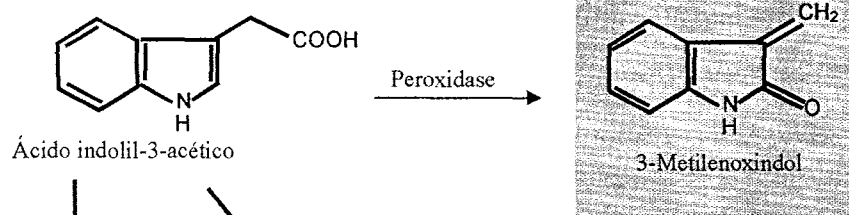
jugados quanto de sua hidrólise é uma importante ferramenta no controle dos níveis de AIA livre presentes nas plantas. Somam-se a isso outras funções, como a estocagem e a proteção contra a degradação.

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. 8.9).

(A) Via das peroxidases (com descarboxilação)



(B) Via não-decarboxilativa

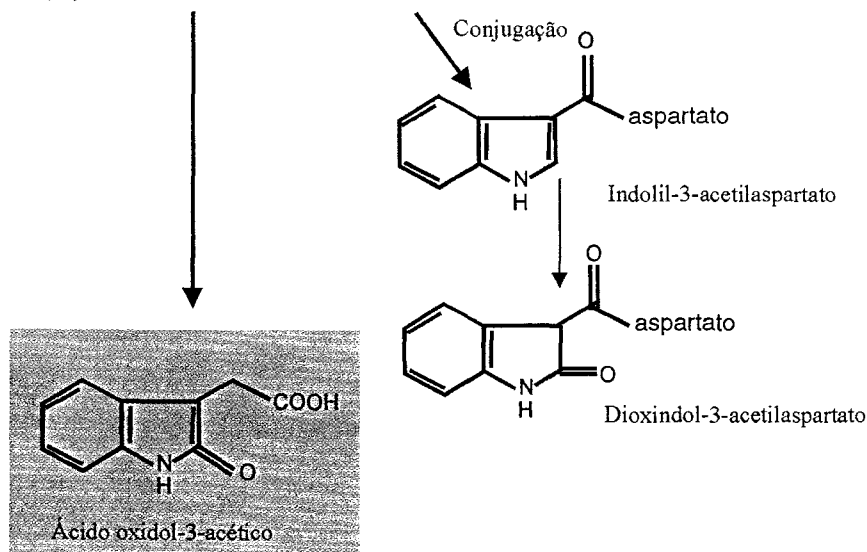


Fig. 8.9 Rotas de degradação do AIA: (A) via das peroxidases ou descarboxilativa; (B) via não-decarboxilativa. Esta última é de ocorrência mais freqüente nas plantas.

A descarboxilação oxidativa do AIA é catalisada por enzimas do tipo peroxidase (via das peroxidases) (Fig. 8.9A), 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. 8.9B). 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. 8.10. Nela estão indicados 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

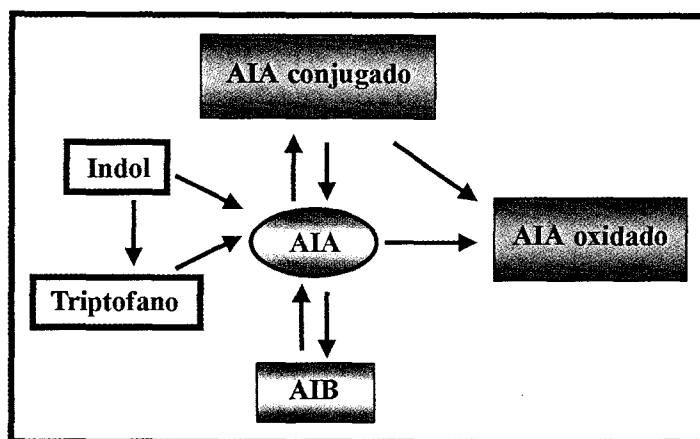


Fig. 8.10 Esquema simplificado das possíveis rotas de síntese, conjugação e degradação do AIA.

doador e receptor, conforme indicado na Fig. 8.11. 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, não sendo afetado pela gravidade. Isto é, o movimento se dá independente da orientação do tecido (Fig. 8.11). 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; entretanto, a principal via de acesso desse fitormônio ao ápice 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. 8.12).

O movimento polar da auxina ocorre célula a célula, em vez de se valer dos plasmodesmos, 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 70, um novo modelo sobre o transporte polar das auxinas foi proposto, sendo conhecido como transporte quimiosmótico da auxina.

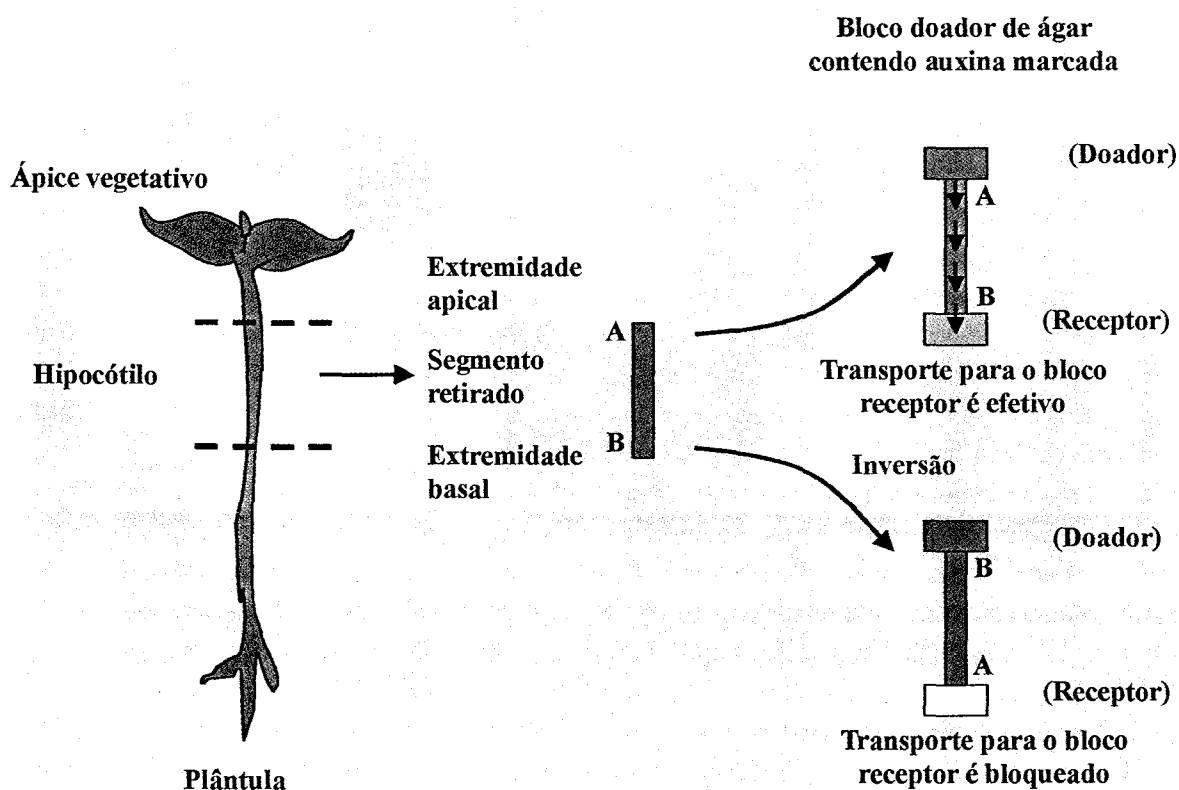


Fig. 8.11 Esquema do ensaio dos blocos de ágar doador e receptor para quantificar o transporte polar da auxina em caule jovem.

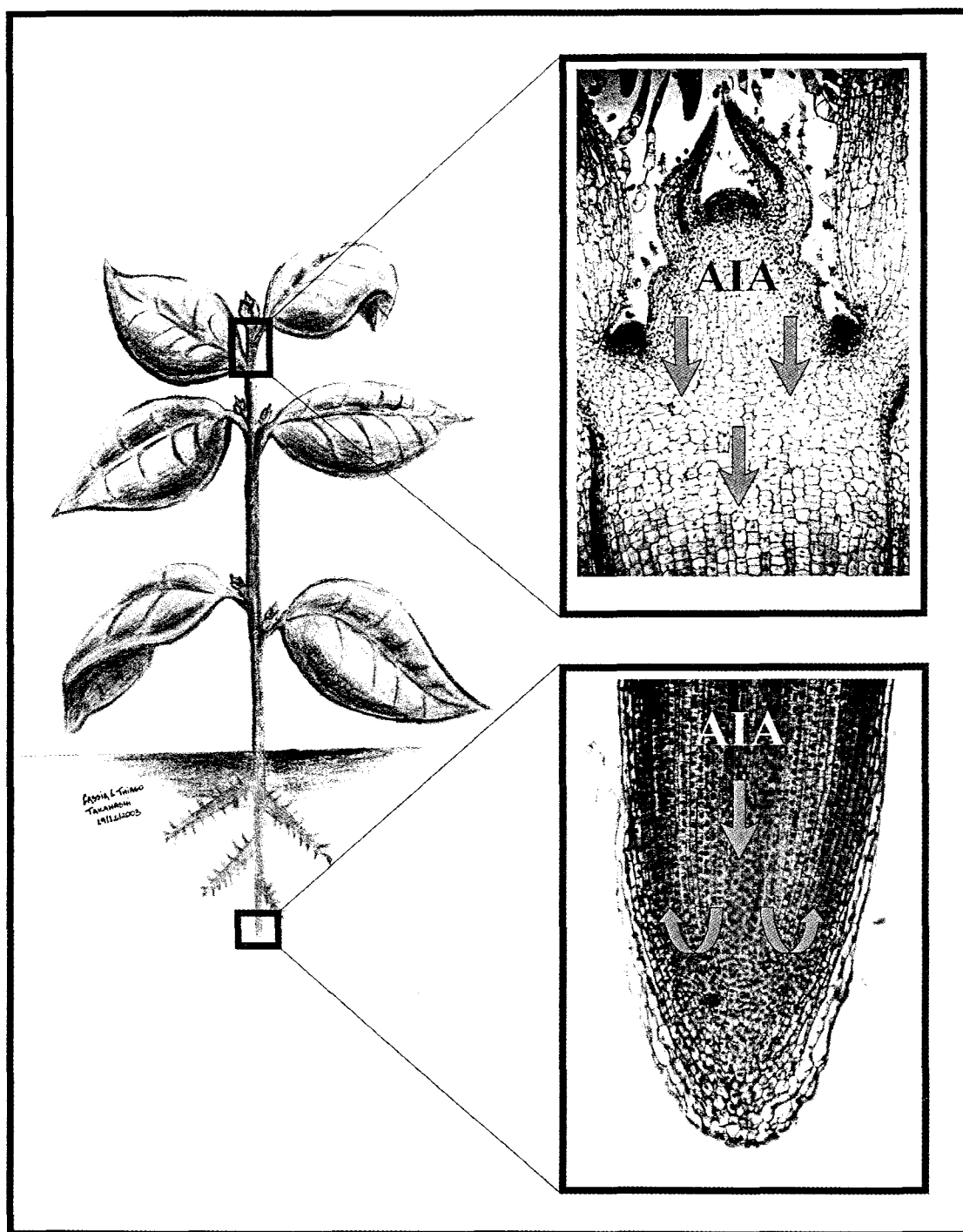


Fig. 8.12 Esquema de uma planta mostrando a chegada de AIA na raiz pelo cilindro vascular (transporte acrópeto) e sua redistribuição parcial pelo córtex e epiderme (transporte basípeto), atingindo a região de alongamento radicular.

Teoria quimiosmótica

De acordo com essa teoria, tanto a entrada de AIA nas células quanto a sua saída delas seriam processos passivos, dependentes de um gradiente eletroquímico

favorável encontrado entre o apoplasto (parede celular) e o citoplasma celular (Fig. 8.13). O AIA é caracterizado por ser um ácido fraco, lipofílico. Dependendo 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 difunde-se 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. 8.13).

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. 8.13).

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

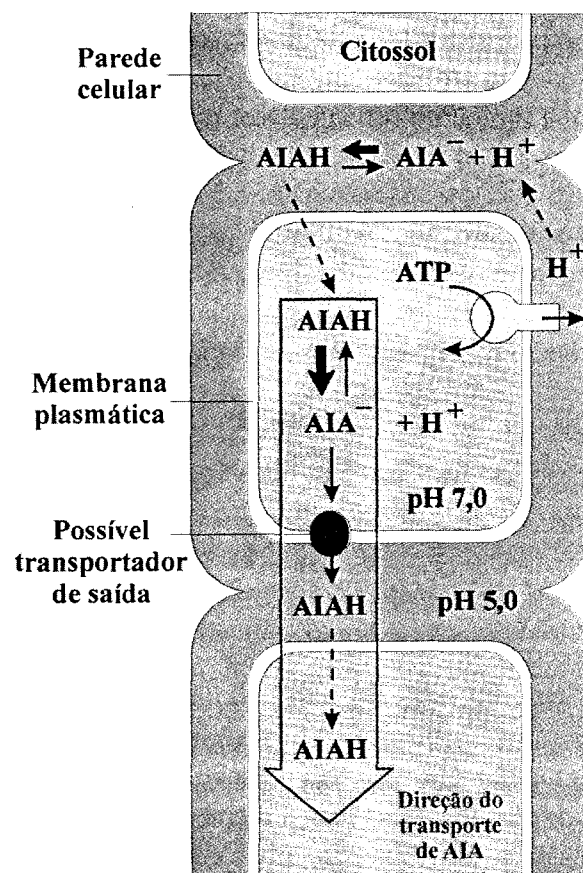


Fig. 8.13 Hipótese quimiosmótica para o transporte polar da auxina.

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. 8.14). Em *Arabidopsis thaliana*, esses transportadores foram bem caracterizados, sendo conhecidos como proteínas PIN (do inglês, *pin-shaped inflorescences*). Dessa maneira, a direção do 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.

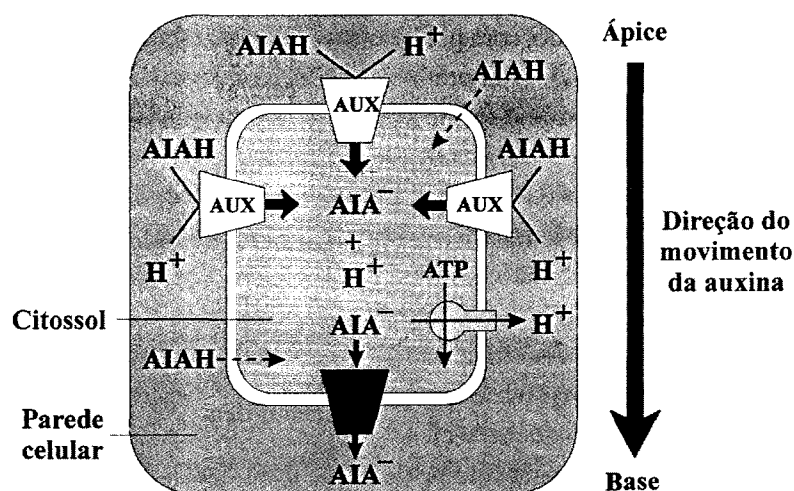


Fig. 8.14 Mecanismo celular de transporte de auxina.

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, 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. 8.15). Especula-se que, por meio desse mecanismo, a redistribuição desses transportadores para uma nova membrana possa ocorrer quando o transporte polar

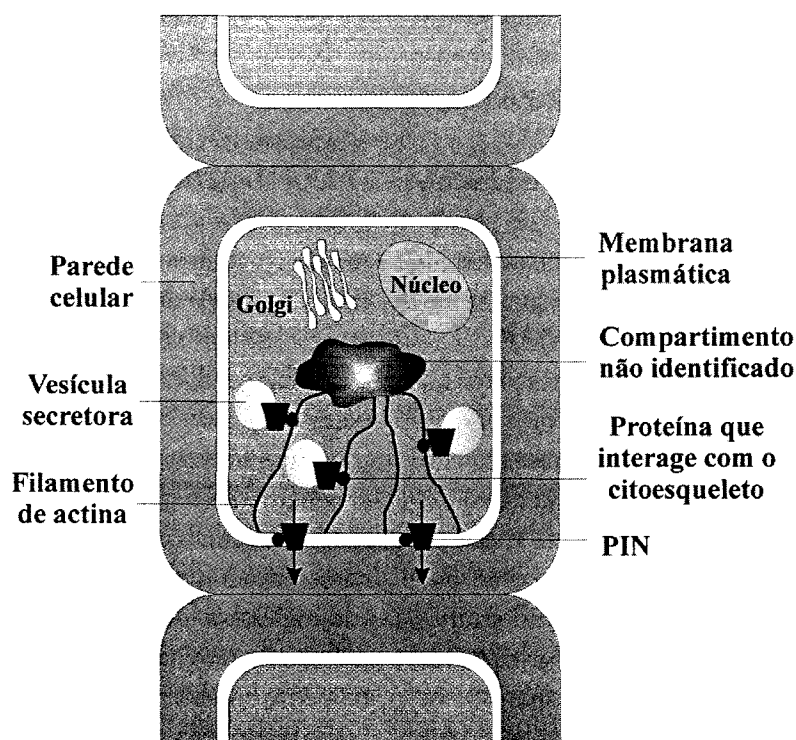


Fig. 8.15 Movimento das proteínas transportadoras de saída de AIA (PIN) por meio de filamentos de actina que direcionam o transporte de vesículas secretoras até a membrana plasmática a partir de um compartimento interno e também no sentido inverso.

da auxina for alterado por estímulos ambientais, como pela luz ou 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 triiodobenzoico (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. 8.16A).

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 certas proteínas, particularmente das cinases dependentes de ciclina (CDKs, do inglês *cyclin-dependent protein kinases*) (Fig. 8.16B). 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. 9, 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 D_3*). 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. 8.16B). Também há evidências de que a citocinina controla a atividade de um outro complexo específico — CDK-ciclina —, este essencial para a transição de G_2 para M (ver Cap. 9, Citocininas).

EXPANSÃO/ALONGAMENTO CELULAR

O crescimento em tamanho da célula vegetal não-meristemática é caracterizado por um aumento irre-

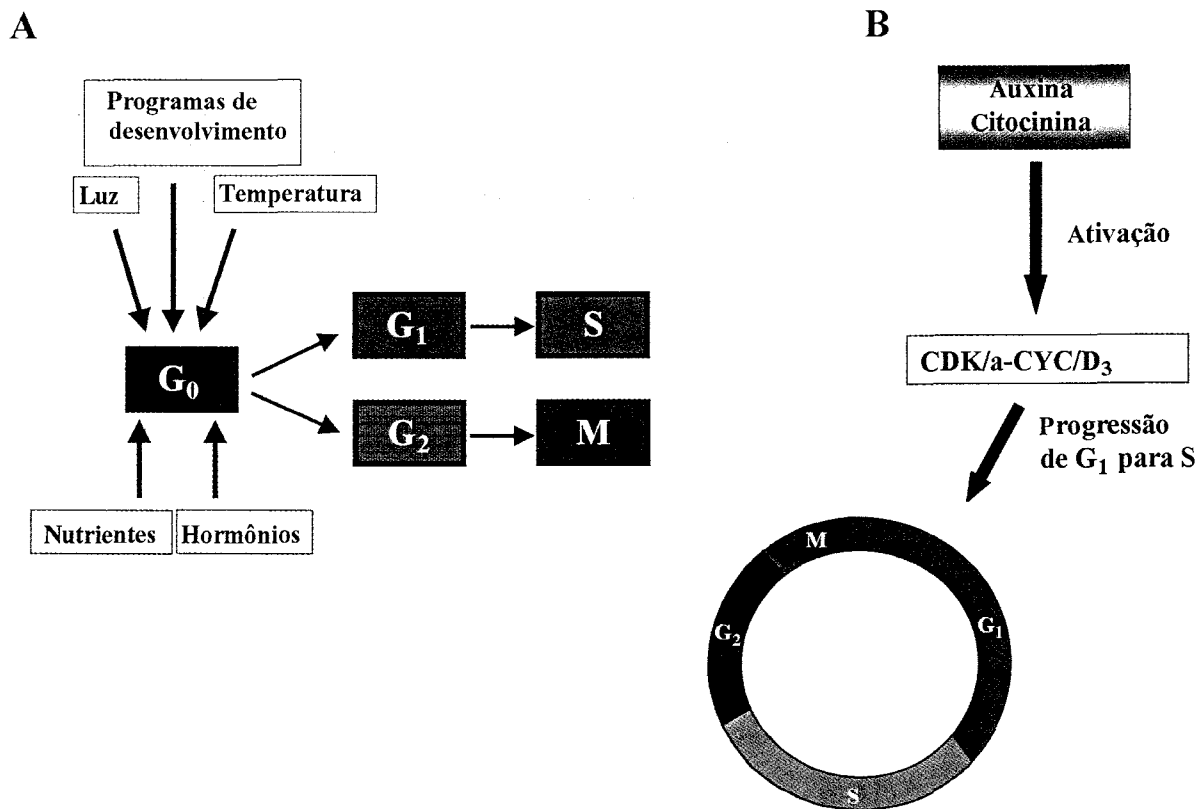


Fig. 8.16 Vias de sinalização que acoplam a percepção do meio ambiente com o controle da divisão celular, permitindo que células em repouso (G_0) progridam no ciclo para G_1 ou para G_2 (A). Hormônios vegetais afetam essa progressão no ciclo celular em pontos específicos. A auxina, em conjunto com a citocinina, é responsável pela formação do complexo ativo CDK/a — CYC/D₃ na fase G_1 (B).

versível 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; 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 nú-

mero 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 híbridas 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. 8.17).

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.

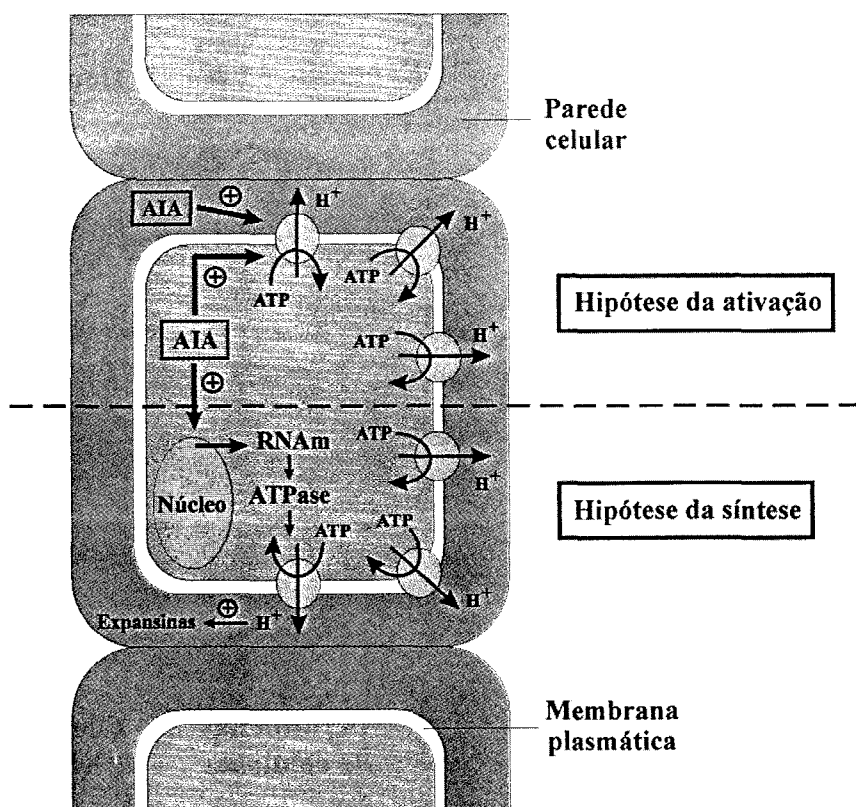


Fig. 8.17 Modelo de acidificação da parede celular induzida por AIA, por meio da ativação de ATPases preexistentes na membrana plasmática (hipótese da ativação) e/ou pela síntese *de novo* de ATPases que são incorporadas à membrana (hipótese da síntese).

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. 8.18). 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. 8.18). 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.

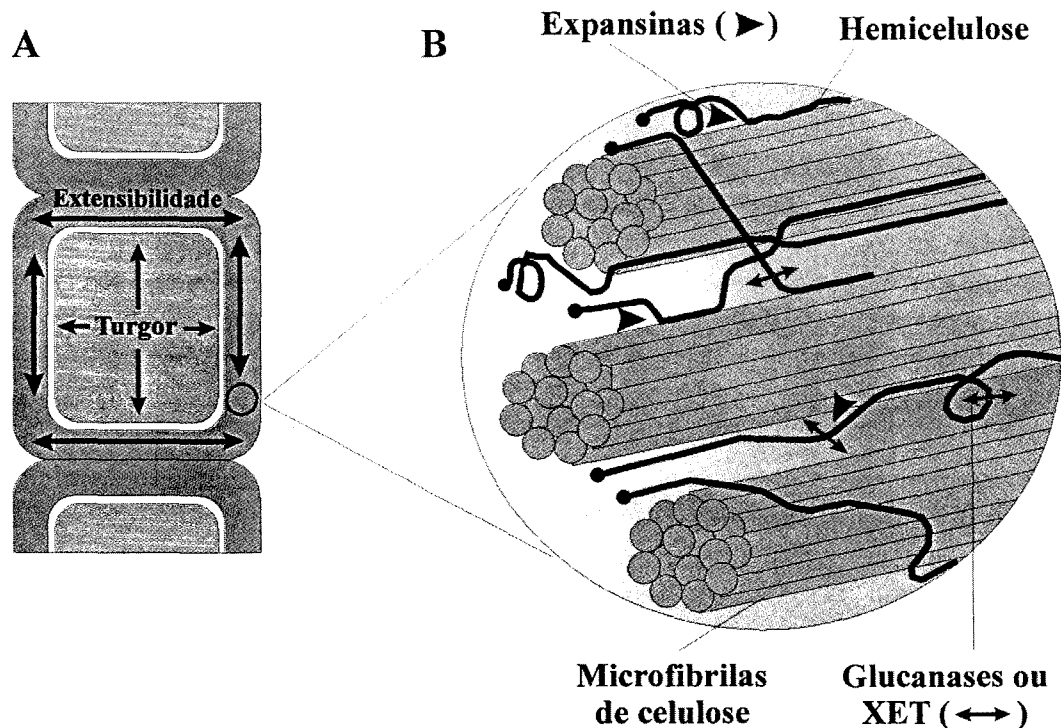


Fig. 8.18 Esquema da parede primária mostrando a pressão de turgor dentro da célula, dirigida sobre a parede celular (A) e os pontos de atuação de algumas enzimas que agem no processo de afrouxamento da parede durante o crescimento (B). A auxina está envolvida com o rompimento das ligações da hemicelulose, permitindo que as microfibrilas de celulose deslizem umas sobre as outras, e também distanciando-se, assim, umas das outras.

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 (Philippar *et al.*, 1999).

Um 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. 8.19). 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. 8.18). 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. 10, Giberelinas).

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

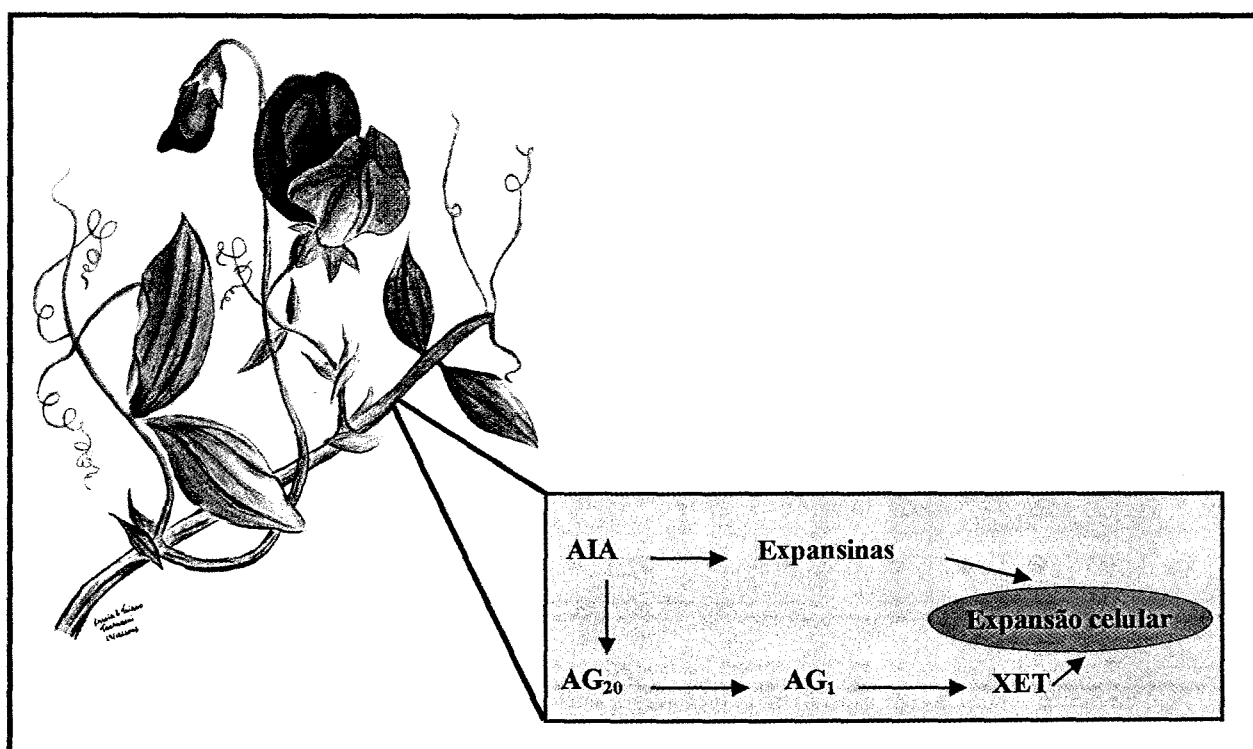


Fig. 8.19 Efeito da auxina sobre a síntese de giberelina em caule de ervilha. O AIA é transportado do ápice para a região dos entrenós em alongamento, onde ativa a etapa de transformação de AG_{20} para AG_1 .

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 dessa planta reduziu intensamente a xilogênese. Entretanto, esse efeito pôde ser revertido com a aplicação de quantidade equivalente de auxina.

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 próximas ao 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. 8.20 mostra que,

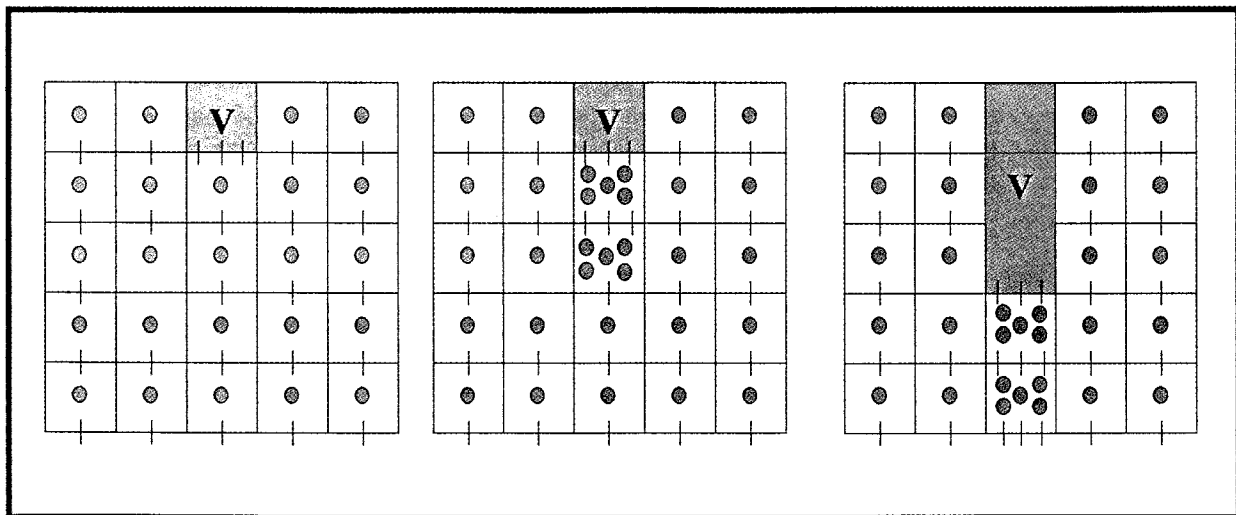


Fig. 8.20 Hipótese da canalização do sinal. À esquerda, células adjacentes ao elemento de transporte rompido (V) têm capacidade similar de transporte de auxina (círculo). Ao centro, uma célula na posição terminal do elemento injuriado torna-se mais eficiente para o transporte de auxina (pequenas barras verticais). À direita, células melhores transportadoras de auxina se diferenciam em tecido vascular.

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. 8.21. Nesse exem-

plo, a rediferenciação é iniciada com o processo de dediferenciação, 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, se transformam 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 conteú-

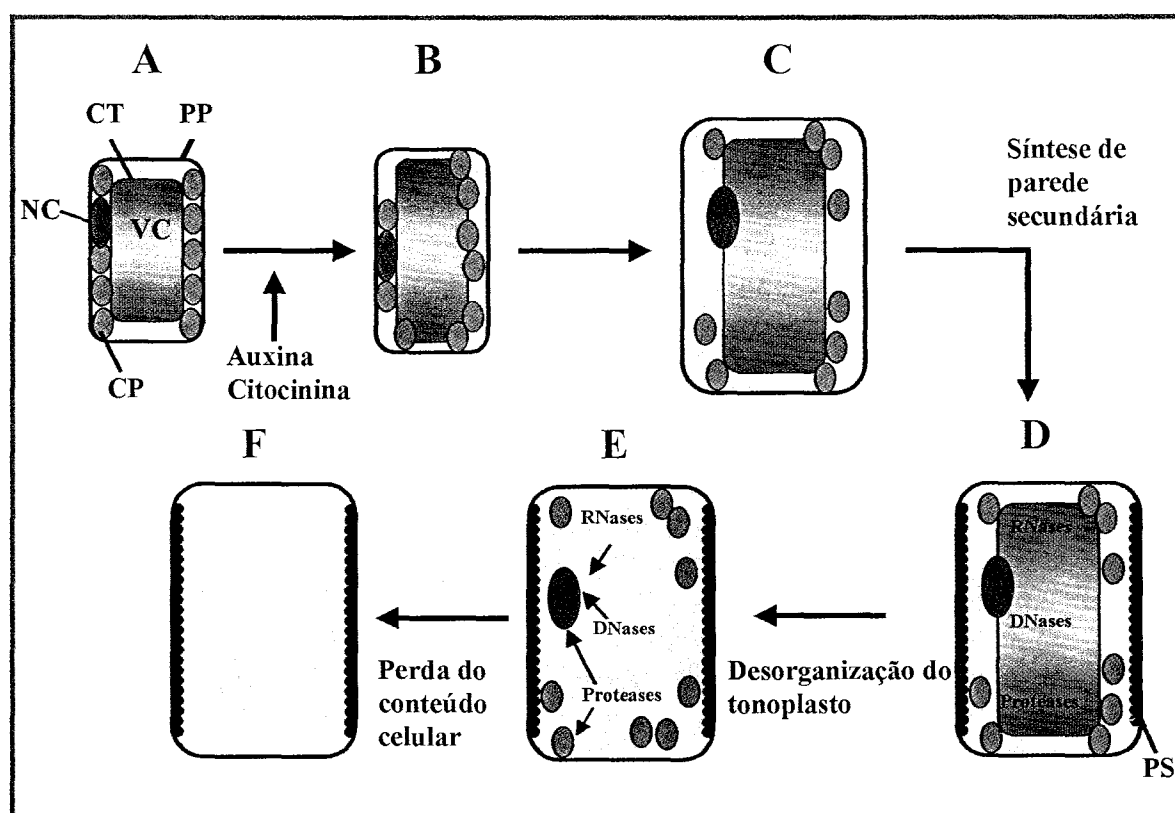


Fig. 8.21 Rediferenciação de uma célula isolada do mesofilo de *Zinnia* em elemento traqueal: (A) quando isolada; (B) dediferenciada pela ação da auxina; (C) célula alongada precursora do elemento traqueal; (D) início da deposição de parede secundária no elemento traqueal imaturo e acúmulo de enzimas 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.

dos citoplasmático e nuclear, por meio da ação de enzimas hidrolíticas, como DNases, RNases e proteases. Através 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.

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. 8.22).

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

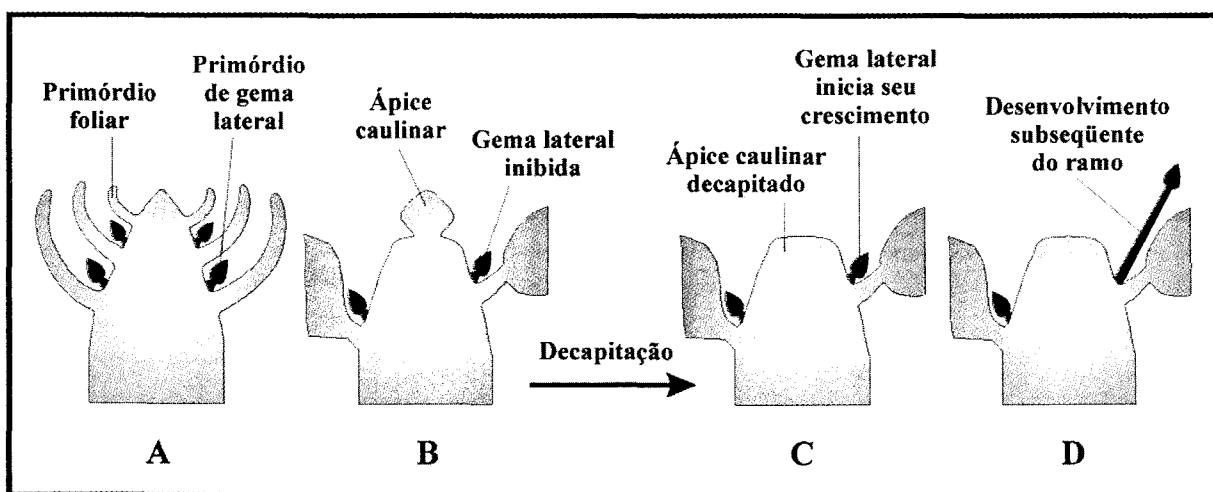


Fig. 8.22 Estágios do desenvolvimento da dominância apical antes e depois da decapitação do ápice caulinar. Antes da remoção do ápice, têm-se os estágios de formação da gema lateral (A) e o de imposição da inibição (dominância apical) (B). Após a decapitação (quebra da dominância apical), têm-se o início do crescimento da gema axilar no segmento induzido (C) e o subsequente desenvolvimento de um novo ramo (D).

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. Considerando 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 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 envol-

vidos 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. 9, 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, frequentemente, 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. 8.23).

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 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.



Fig. 8.23 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).

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. 8.24). Entretanto, quando a plân-

tula 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. 8.25). 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*: 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.

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 forma-

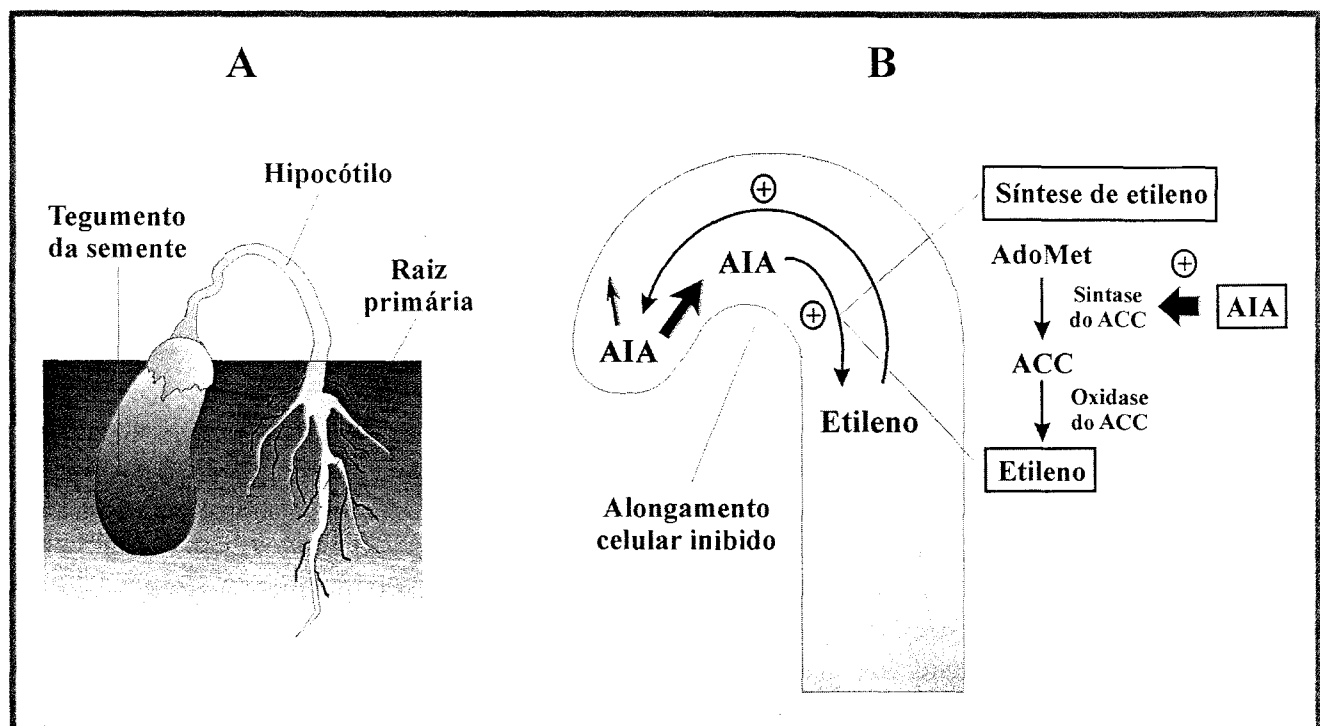


Fig. 8.24 Plântula de feijoeiro com formação de gancho apical (A). Esquema indicativo dos fatores hormonais envolvidos na formação do gancho apical (B). Uma distribuição desigual de AIA gera níveis indutores da síntese de etileno de um dos lados do hipocótilo, causando a inibição do alongamento das células 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.

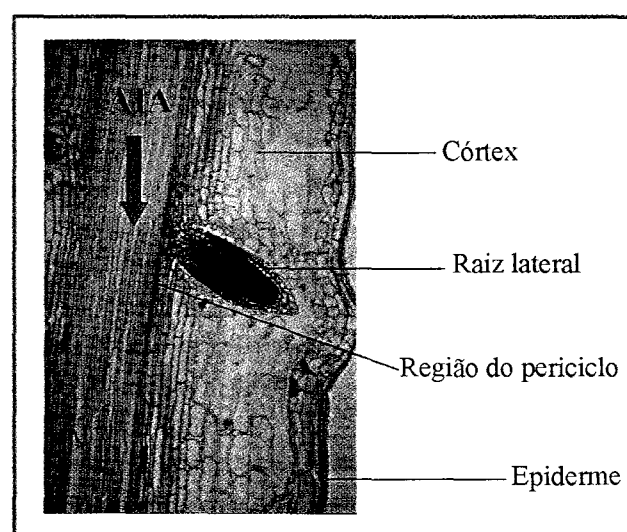


Fig. 8.25 Corte longitudinal de raiz primária de *Eichhornia*, mostrando o desenvolvimento de uma raiz lateral. Algumas células do periciclo iniciam as divisões celulares induzidas por AIA, formando o primórdio da raiz lateral.

ção das raízes laterais. Em horticultura, o efeito indutor da auxina tem sido muito utilizado na propagação vegetativa de plantas por estaquia. 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 Bromeliaceae 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 através 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 partenocárpicos 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 partenocárpicos. 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, Cucurbitaceae e em *Citrus*, geralmente resulta no desenvolvimento de frutos partenocárpicos. 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 Cap. 16, *Floração*).

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. 8.26). 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. Somam-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.

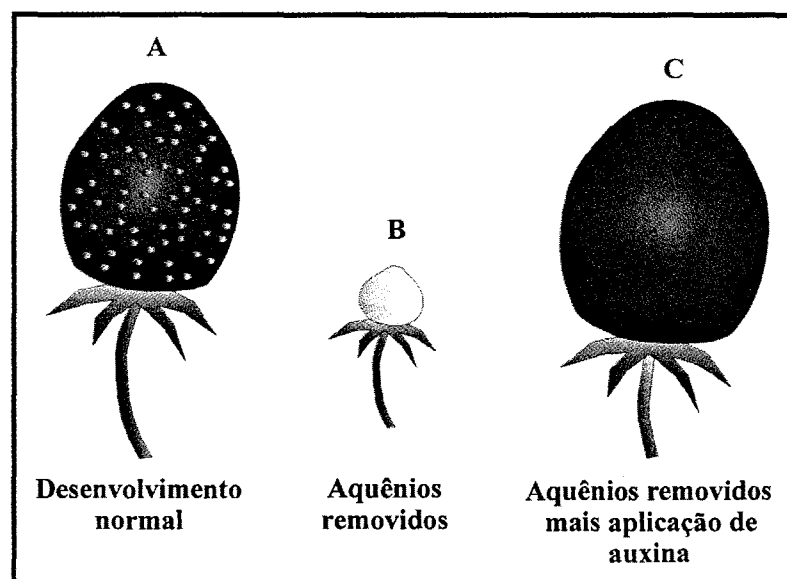


Fig. 8.26 Receptáculo de morango (pseudofruto), cujo crescimento é regulado pela auxina produzida pelos aquênios (pequenos frutos secos) (A). Receptáculo cujos aquênios foram removidos não se desenvolve (B), porém, se for pulverizado com uma solução de AIA, readquire o crescimento (C).

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.

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. 8.27). 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.



Fig. 8.27 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).

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, 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 teci-

do de cicatrização suberificado surge no corpo da planta, no local onde houve a abscisão do órgão (Fig. 8.28) (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, decrescendo 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. 8.29).

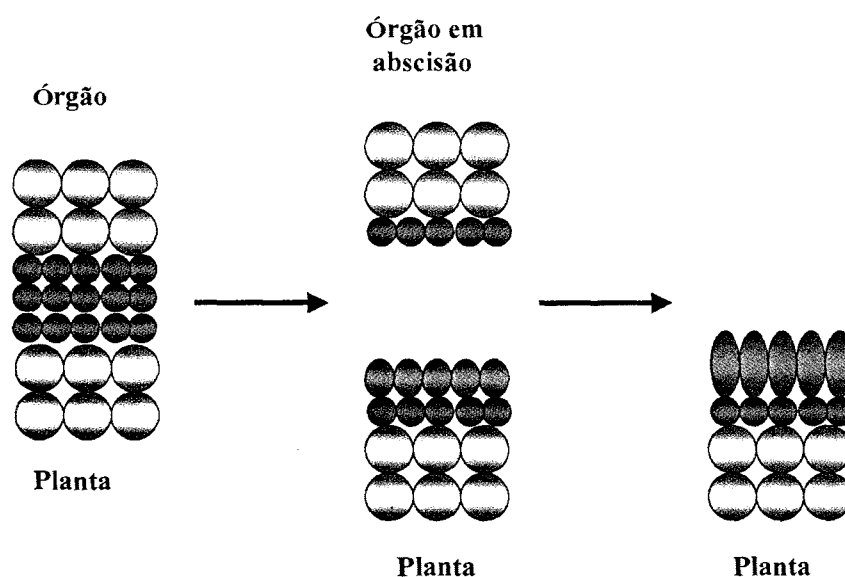


Fig. 8.28 Representação esquemática dos eventos associados com a abscisão de um órgão. Círculos rosa representam células da zona de abscisão; círculos brancos representam células grandes, com vacúolos, do tecido maduro; figuras ovais azuis representam células expandidas que se rediferenciam (transdiferenciação) em periderme suberificada (camada de cicatrização).

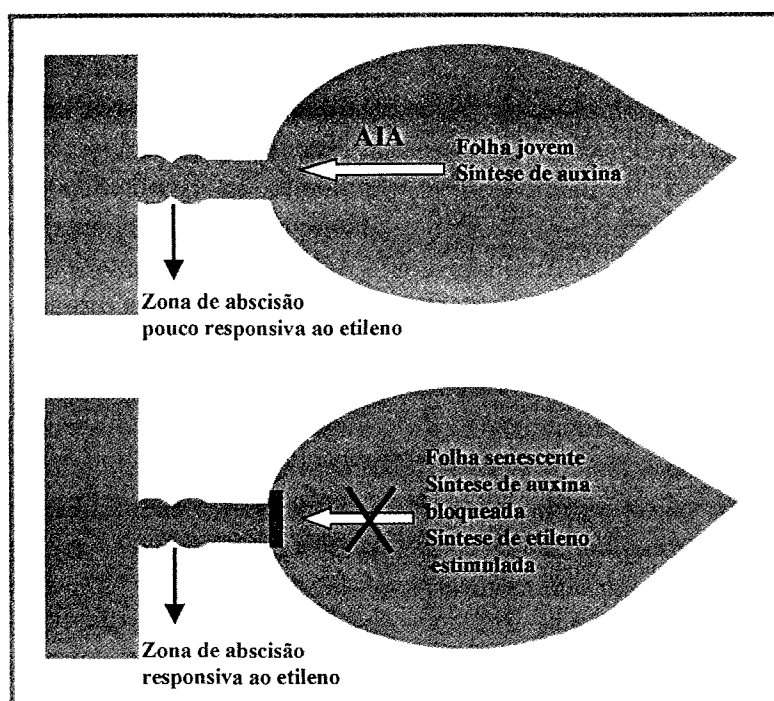


Fig. 8.29 Esquema representativo dos efeitos induzidos pela auxina e etileno presentes em folhas jovem (A) e senescente (B).

Ação herbicida de auxinas sintéticas

As auxinas sintéticas, como o 2,4-D, o dicamba e o picloram, por exemplo (Fig. 8.4), 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 des-

ses 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

Até o momento, pouco se conhece sobre como a auxina é percebida, ou quais moléculas receptoras estão envolvidas em seu reconhecimento. Contudo, as células devem ser capazes de reconhecer diferenças de concentração e induzir ou inibir certos genes.

Uma proteína que possui alta afinidade pela auxina já foi identificada. Ela foi caracterizada e clonada a partir de plantas de milho, sendo chamada de ABP1 (do inglês, *auxin binding protein 1*), sendo posteriormente encontrada também em vários outros vegetais. A proteína ABP1 não possui regiões hidrofóbicas típicas de proteínas de membrana. Sendo assim, 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. 8.30). 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 consequência 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. 8.30).

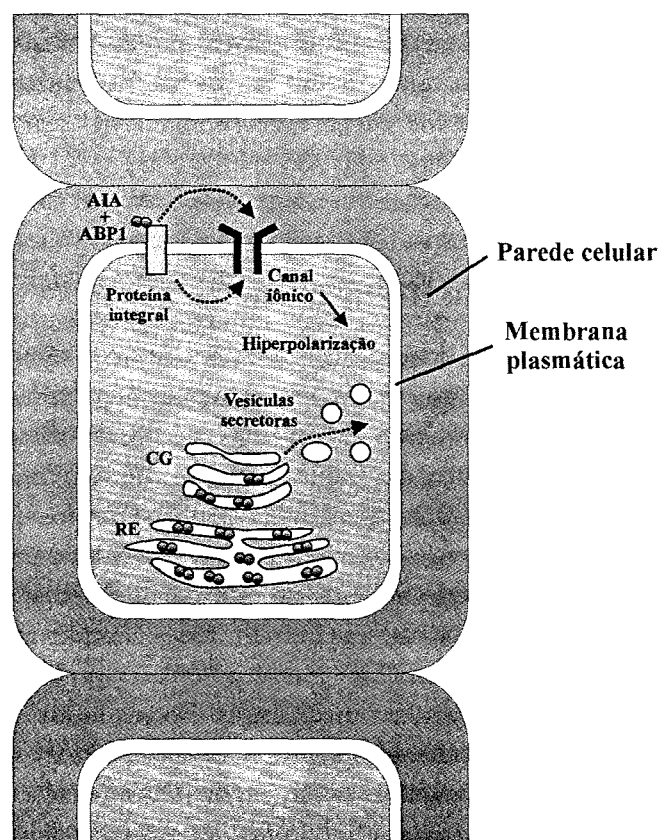


Fig. 8.30 Modelo representativo das possíveis localizações do receptor de auxina ABP1 na célula vegetal e os efeitos associados à sinalização do AIA.

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. No entanto, outros receptores de auxina também regulariam o crescimento foliar, em cooperação com a ABP1 (Luschnig, 1999). É possível que múltiplos tipos de receptores e de rotas de transdução de sinal possam existir, o que explicaria a diversidade de respostas à auxina observada em diferentes tecidos e órgãos. Estudos recentes realizados com folhas de tabaco em crescimento demonstraram que a ABP1 age no processo de alongamento celular por meio de níveis relativamente baixos de auxina. No entanto, foi proposta a existência de um outro receptor, ainda não identificado e genericamente chamado de Rx, o qual agiria sobre a divisão celular sob influência de concentrações mais elevadas desse hormônio. Postula-se assim, portanto, a existência de dois receptores: um com maior afinidade por auxina, que controlaria a expansão celular (ABP1), e um outro receptor (Rx) com menor afinidade, que controlaria a divisão celular (Chen, 2001) (Fig. 8.31).

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

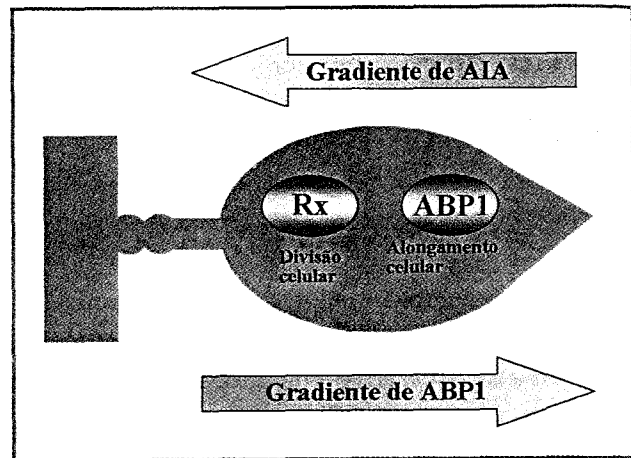


Fig. 8.31 Esquema de uma folha jovem de tabaco em determinada fase do crescimento caracterizado pela ocorrência de alongamento preferencial das células apicais e por divisão nas células basais. Nota-se um aumento do gradiente basípeto longitudinal de AIA livre, com o menor nível desse hormônio no ápice foliar. Coerentemente, o gradiente de ABP1 aumenta no sentido contrário (acrópeto), isto é, a maior concentração desse receptor encontra-se no ápice foliar. Portanto, o maior conteúdo de AIA está localizado na base da folha, onde as células estão se dividindo, enquanto níveis menores estão presentes no ápice, onde o alongamento acontece.

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 (Fig. 8.32).

Há ainda evidências de que proteínas-G (pertencentes à superfamília 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 (Fig. 8.32). 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

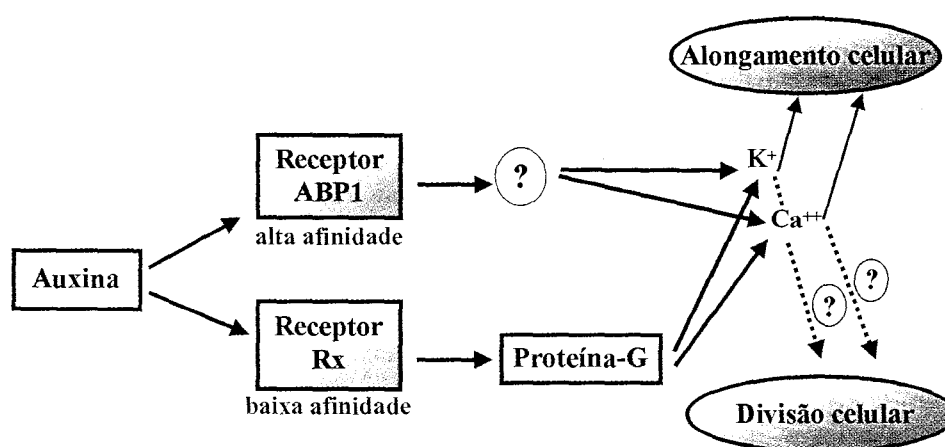


Fig. 8.32 Modelo mostrando algumas possíveis rotas de transdução do sinal da auxina. Um receptor de alta afinidade, ABP1, controla a expansão celular, enquanto um receptor de baixa afinidade, Rx, (ainda não identificado) controla a divisão celular. A transdução de sinal a partir da formação do complexo auxina-receptor envolve a participação de outras proteínas (calmodulinas/cinases) e/ou íons (cálcio/potássio).

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. Sabe-se que, de alguma maneira, a auxina influencia a marcação de certas proteínas celulares que irão ser degradadas através do processo mediado pela ubiquitina. Esta última é uma proteína que se liga à proteína, marcando-a, assim, antes de ser eliminada; nesse processo de ligação, há gasto de ATP e uma seqüência ordenada de enzimas está envolvida. A auxina parece agir sobre esse mecanismo de ligação proteína-ubiquitina, induzindo enzimas que promovem essa interação. Alternativamente, uma outra hipótese preconiza que a auxina regula o grau de fosforilação das proteínas-alvo a serem degradadas, envolvendo, portanto, a ativação de cascatas de cinases (MAPK) (Leyser & Berleth, 1999).

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 aplica-

ção 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) 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*, *savr*, *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 glutationa 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. 8.33 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).

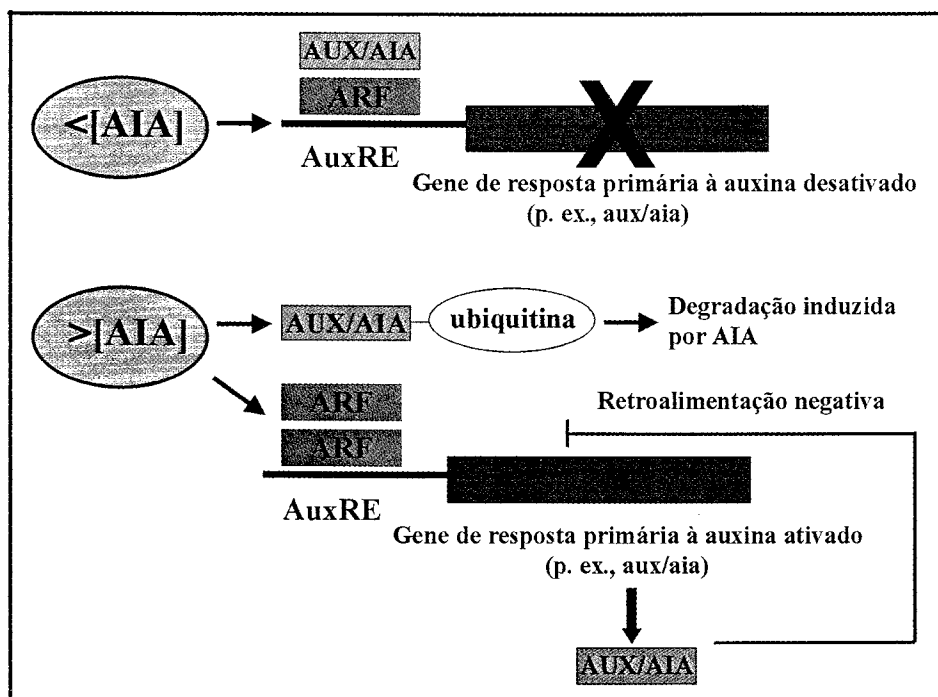


Fig. 8.33 Modelo de regulação da transcrição de genes de resposta primária à auxina por dois tipos de fatores de transcrição: proteínas AUX/AIA e por fatores de resposta à auxina (ARFs).

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 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 Dr^a Catarina Carvalho Nievola e à aluna Cássia Ayumi Takahashi, assim como a permissão do uso das fotografias à Prof^a Dr^a Nanuza Luiza de Menezes (Fig. 8.25), ao Dr. Adilson José Pereira (Fig. 8.27), ao Prof. Dr. Gregório C. T. Ceccantini (Fig. 8.12) e à M.Sc. Beatriz Maia Souza (Fig. 8.23).

REFERÊNCIAS

- 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 β -oxidation. *J Plant Growth Regulation*, 2001, 20:198-216.
- 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.
- Chen JG. Dual auxin signaling pathways control cell elongation and division. *Journal Plant Growth Regulation*, 2001; 20:255-264.
- 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.
- 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.
- Kutschera U. Cell expansion in plant development. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 2000; 12:65-95.
- Leyser O, Berleth T. A molecular basis for auxin action. *Cell & Developmental Biology*, 1999; 10:131-137.
- Leyser O. Molecular genetics of auxin signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2002; 53:377-398.
- Luschnig C. Two pieces of the auxin puzzle. *Trends in Plant Science*, 1999; 4:162-164.
- 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.
- Philippart 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 50, 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 le-

vou 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 com-

*Excelentes revisões sobre biotecnologia de plantas podem ser encontradas em Torres, Caldas & Buso, 1999.

posto 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 50, 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 explicações para a liberação de cinetina a partir de esper-

ma 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 fenilurêias, como o thidiazuron, também possuem atividade citocinínica (Thomas & Katterman, 1986). As estruturas das principais citocininas naturais e sintéticas são apresentadas nas Figs. 9.1 e 9.2. 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

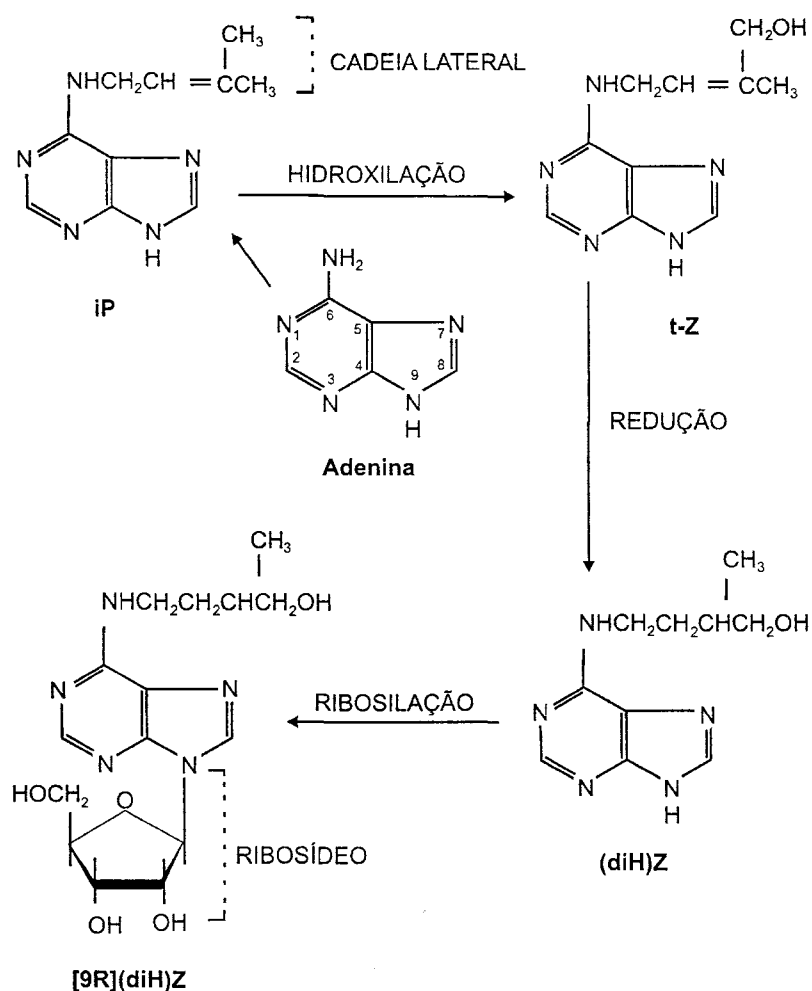


Fig. 9.1 Estrutura das principais citocininas que ocorrem naturalmente nos tecidos vegetais. Todas as citocininas naturais são derivadas de adenina. Isopenteniladenina – iP; *trans*-zeatina – t-Z e diidrozeatina – (diH)Z são consideradas formas livres desses hormônios. Zeatina e diidrozeatina são geradas 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.

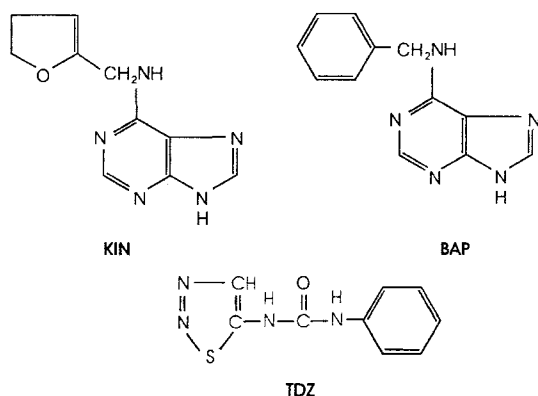


Fig. 9.2 Estrutura das principais citocininas sintéticas. A cinetina (KIN) e a benzilaminopurina (BAP) possuem um anel de purina (adenina) igual ao das citocininas naturais (Fig. 9.1). O thidiazuron (TDZ) é uma citocinina do tipo feniluréia que difere bastante da estrutura das citocininas naturais pela ausência da base nitrogenada (adenina).

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).

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 focar 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 considerar 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 desenvolvimento da planta, uma abordagem genética (baseada na obtenção de mutantes) é difícil de alcançar. Desse modo, mutantes defectivos 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. 9.3). 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 *Agro-*

bacterium 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 possuíssem homologia com esse gene. As tentativas frustradas levaram à consideração até de que as citocininas presentes nos tecidos vegetais seriam produzidas por microorganismos simbioses 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 filogenéticas 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

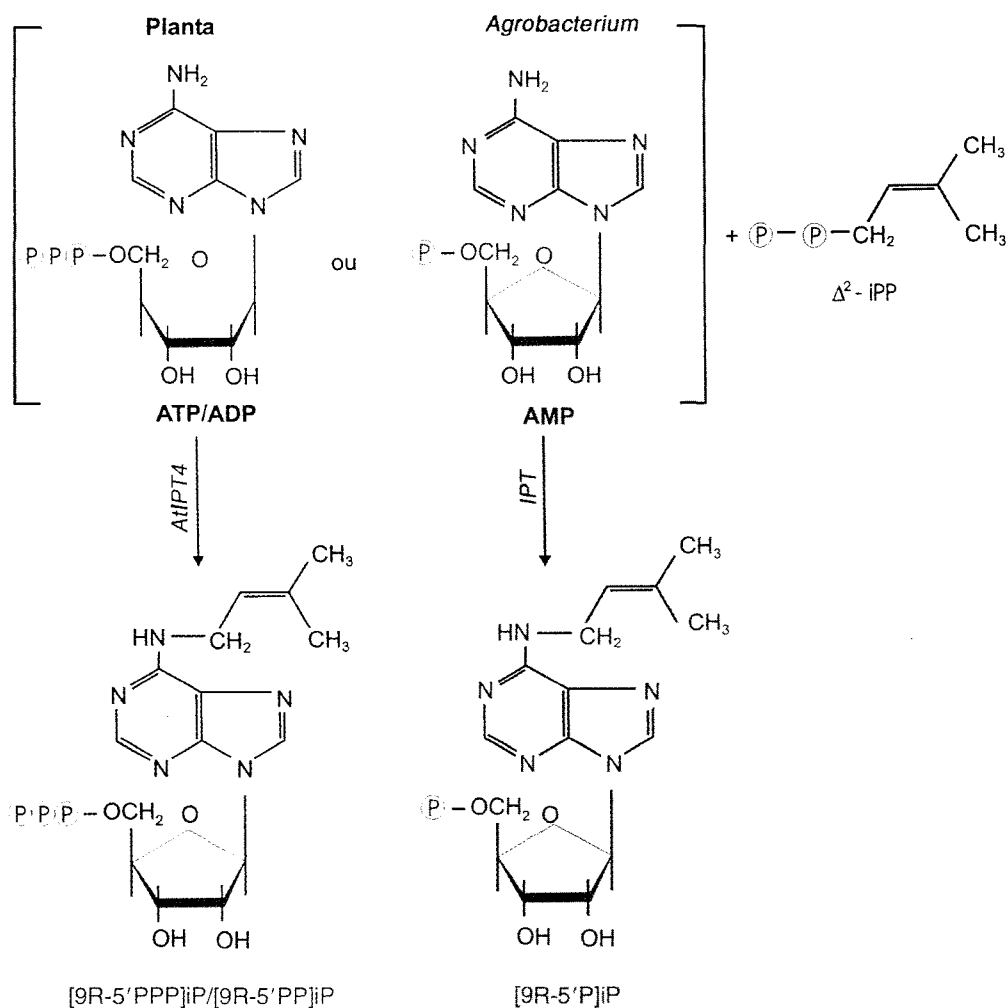


Fig. 9.3 Biossíntese de citocininas. A enzima isopentenil transferase (IPT) é codificada pelo gene *atipt4* em *Arabidopsis thaliana* (coloração verde) e pelo gene *ipt* em *Agrobacterium tumefaciens* (coloração marrom). Diferentemente de bactéria, a enzima IPT de plantas utiliza preferencialmente ATP ou ADP em vez de AMP.

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. 9.3), podendo ser, subsequentemente, convertidos a zeatina.

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 defec-

tivo *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. 9.4 e Tabela 9.1). 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. 9.3), 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. 9.4 e Tabela 9.1, 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 ca-

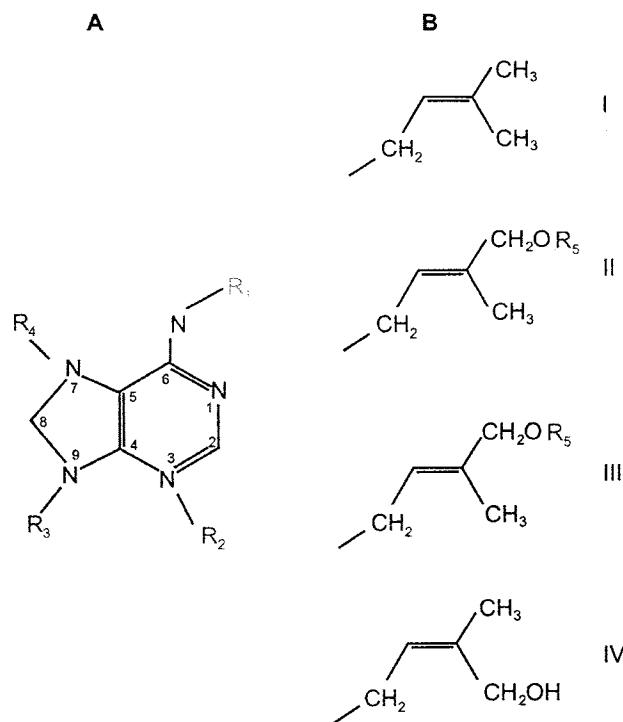


Fig. 9.4 Anel purínico característico das citocininas (A) e cadeias laterais (R_1) possíveis (B). As conjugações possíveis no anel purínico (radicais R_2 , R_3 e R_4 , o quais normalmente formam N-glicosídeos) e na cadeia lateral (radical R_5 , o quais costumam formar O-glicosídeos) estão descritas na Tabela 9.1.

deia 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 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 represen-

TABELA 9.1 Principais tipos de citocininas e seus conjugados. As posições dos radicais são mostradas na Fig. 9.4. 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 t-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	c-Z
30		-	G	-	-	<i>cis</i> -zeatina-9-glicosídeo	[9G]c-Z

tadas 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 li-

vre 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. 9.4 e Tabela 9.1. É interessante 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 ortotopoli-

nas. 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. 9.5), 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 (N7 e N9-glicosídeos). Esse tipo de reação equivale a uma reativação de citocininas anteriormente inativadas por glicosilação (Fig. 9.5), 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

*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.

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. 9.6. 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. 9.7). 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 existem outras enzimas atuando além da CKO.

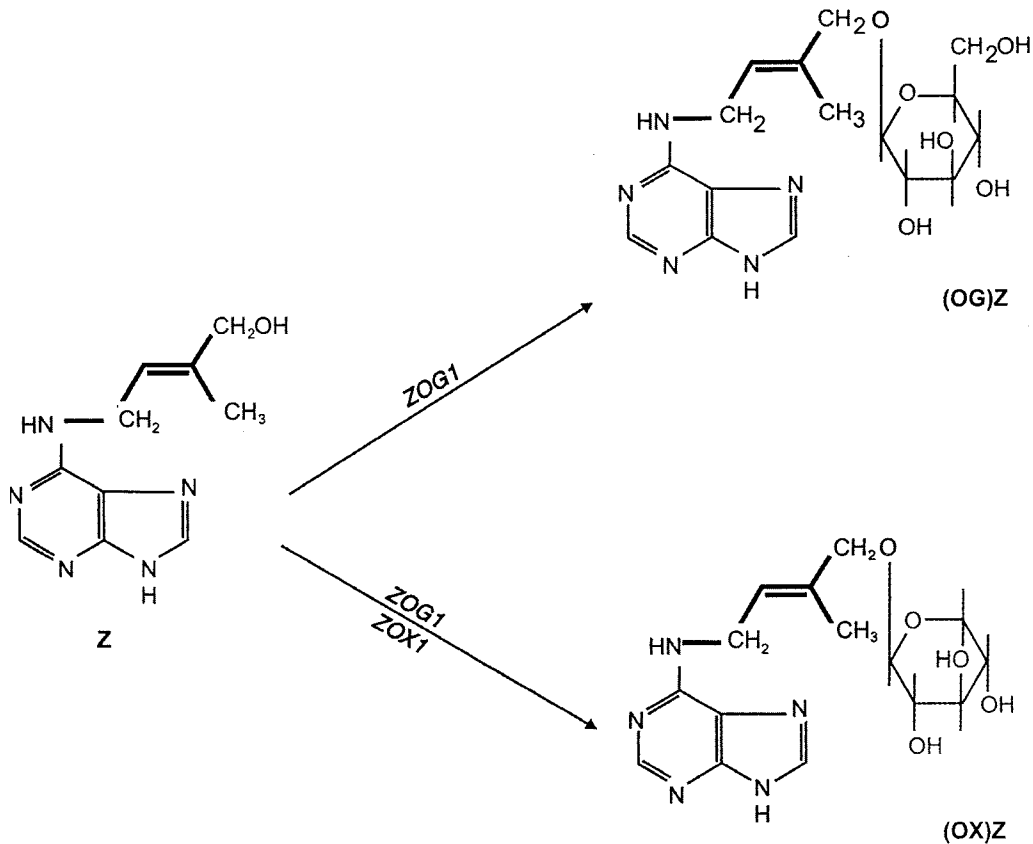


Fig. 9.5 Conjugação de citocininas por glicosilação. Os genes *ZOG1* e *ZOX1* codificam, respectivamente, para síntese de O-glicosiltransferase e O-xilosiltransferase. Essas enzimas têm especificidade por *trans*-zeatina (Z) como substrato e não conseguem conjugar (diH)Z, *c*-Z ou [9R]Z. Os compostos (OG)Z e (OX)Z representam moléculas de zeatina conjugadas com glicose (azul) e xilose (vermelho), sendo, portanto, fisiologicamente inativos.

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 (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.

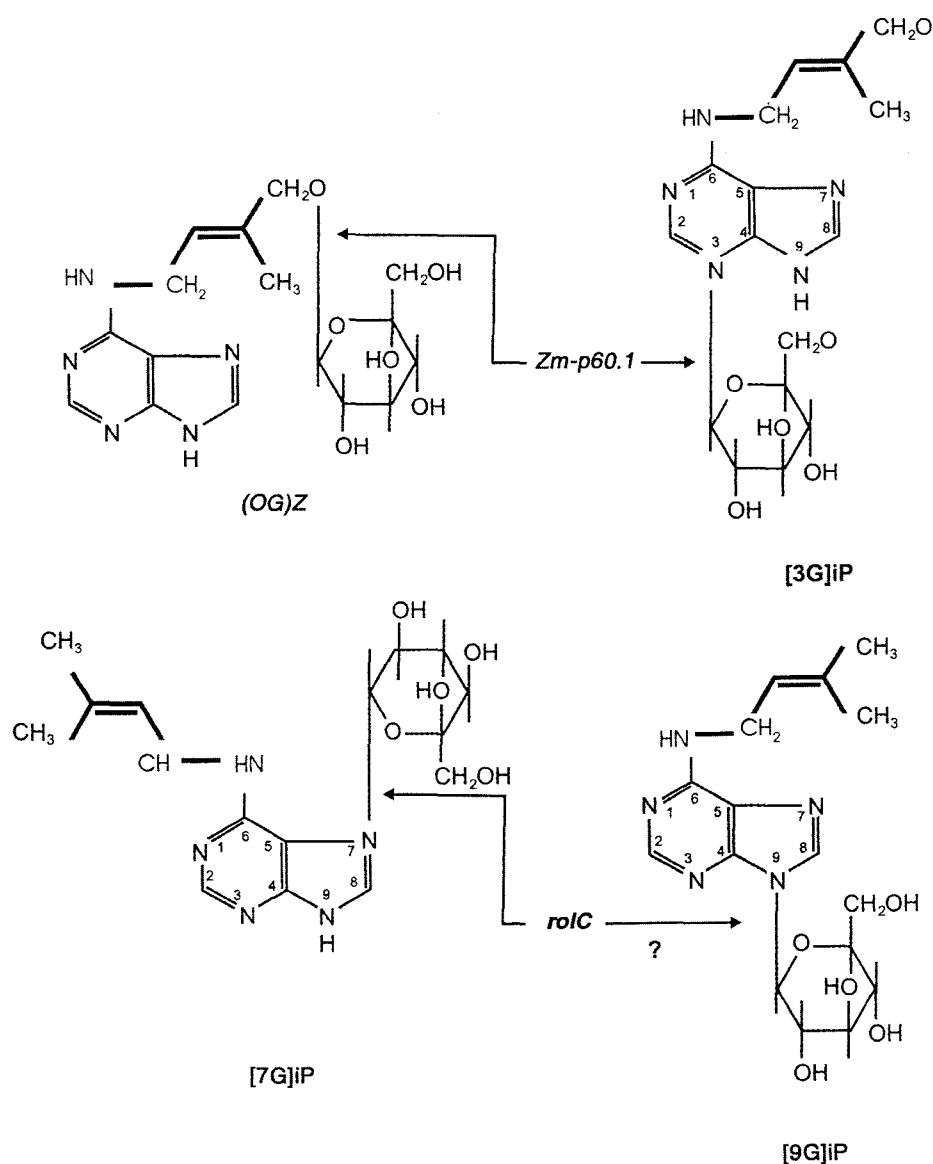


Fig. 9.6 Hidrólise de citocininas. A enzima codificada pelo gene *zm-p60.1* é capaz de hidrolisar O-glicosídeos de zeatina e N-glicosídeos de isopenteniladeno e zeatina na posição 3, mas não nas posições 7 e 9, estes dois últimos, portanto, funcionando com possíveis formas de inativação. Os O-glicosídeos 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.

lógicas. 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 gênicas-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 metabo-

lizada 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 9.1), e, em tecidos com tal

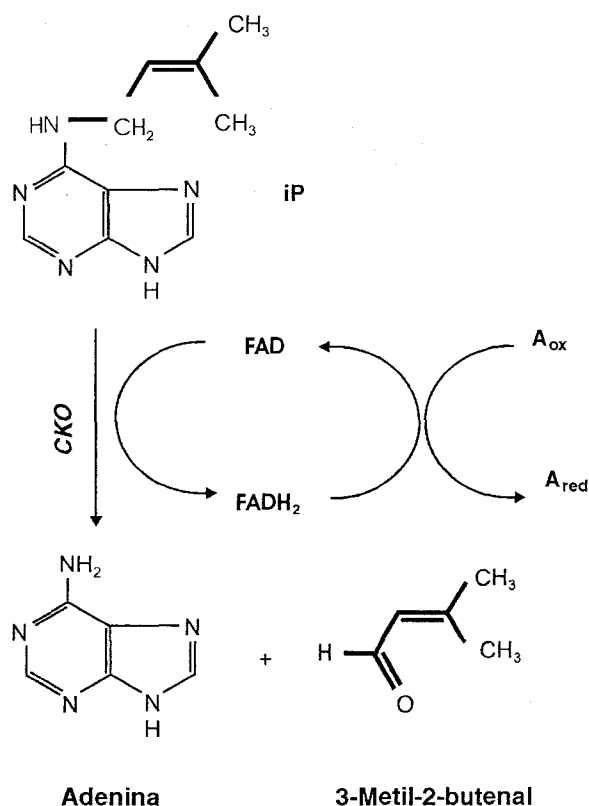


Fig. 9.7 Degradação de isopenteniladenina (iP) pela oxidase de citocinina (CKO), com a participação da flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e de uma outra substância como aceptores de elétrons (A_{ox}), a qual poderia ser o cobre (Cu^{2+}).

capacidade, outras citocininas podem ser as mais ativas. De modo semelhante, a constatação de que o thidiazuron é um inibidor da oxidase de citocinina, aliado 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 biossíntese 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 sobre 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 de 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. 9.8).

As evidências de que as citocininas possuíam 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 ca-

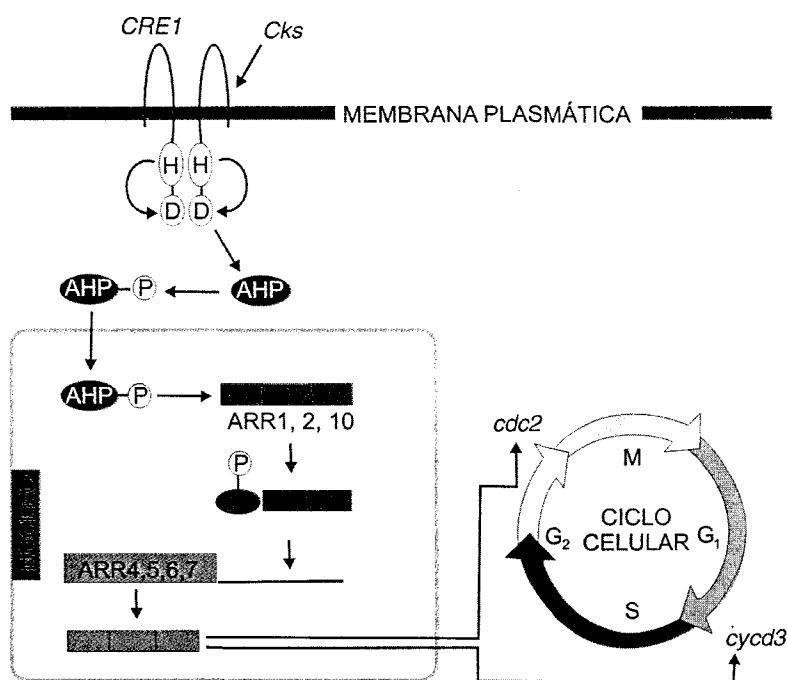


Fig. 9.8 Transdução do sinal de citocininas. A ligação de citocininas ao receptor *CRE1*, localizado na membrana plasmática, faz com que este atue como uma histidina cinase, a qual inicia uma série de fosforilações que irão desencadear a ativação de reguladores de respostas (ARRs). A primeira dessas 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.

pazes 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 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. 9.9). Esses resultados confirmam previsões anteriores segundo as quais a modelagem espacial do receptor de citocininas sugeria que tanto Cks do tipo adenina quanto uréica 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 *ckil* 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.

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

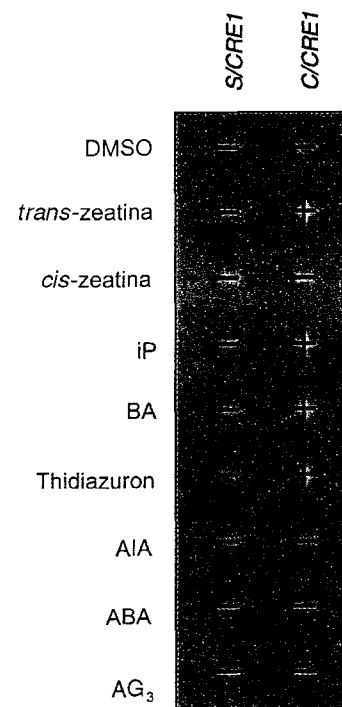


Fig. 9.9 Expressão do gene que codifica um receptor de citocinina (CRE1) em levedura mutante deficiente em receptores do tipo histidina quinase. Esse tipo de mutação é letal, mas a introdução do gene *cre1*, o qual codifica um receptor do tipo histidina quinase, possibilitou a sobrevivência das leveduras (representada pelo sinal "+"), desde que fossem cultivadas em meio contendo citocininas ativas. Ao se adicionar 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 "-"). (Modificado de Inoue *et al.*, 2001.)

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. 9.8) 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 conseqüência, a região promotora dos genes de reguladores de resposta do tipo A respondem diretamente às Cks. Tomando vantagem dessa caracterís-

tica, 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. 9.10). 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.

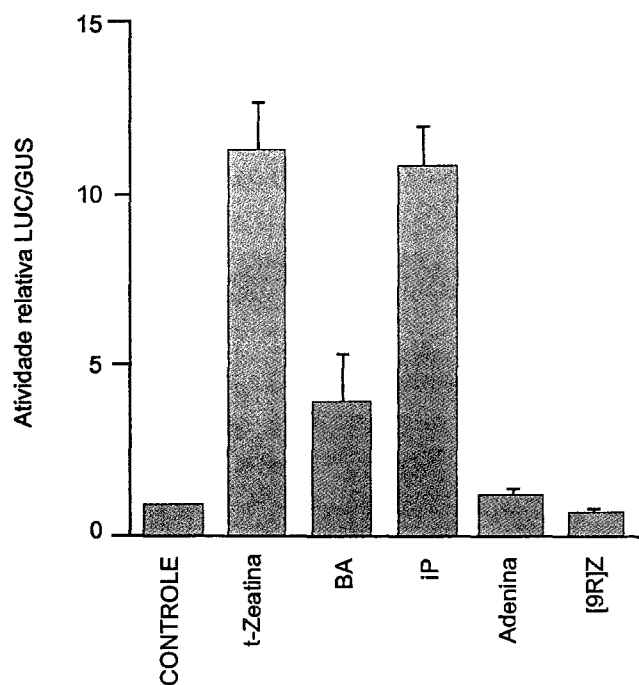


Fig. 9.10 Ensaio de expressão transiente em protoplasto de *Arabidopsis* contendo o promotor de um gene induzido por citocininas (ARR6) ligado ao gene repórter da β -glucuronidase (*gus*) ou luciferase (*luc*). Notar que somente bases livres (BA, iP e Z) mostraram atividade nesse bioensaio, sugerindo que mesmo as formas ribosídicas, como [9R]Z, não são citocininas realmente ativas. (Modificado de Hwang & Sheen, 2001.)

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 *cyd3* 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 *cyd3* constitutivamente, isto é, tecidos de plantas transgênicas com superexpressão de *cyd3* em todas as células, não dependem de Cks exógenas para formar calos esverdeados *in vitro* (Riou-Khamlichi *et al.*, 1999). Desse modo, *cyd3* 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 ciclina codificada pelo gene *cdc2*, já foi evidenciado 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*

*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*.

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 estabele-

cimento de drenos (Fig. 9.11), 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 quantida-

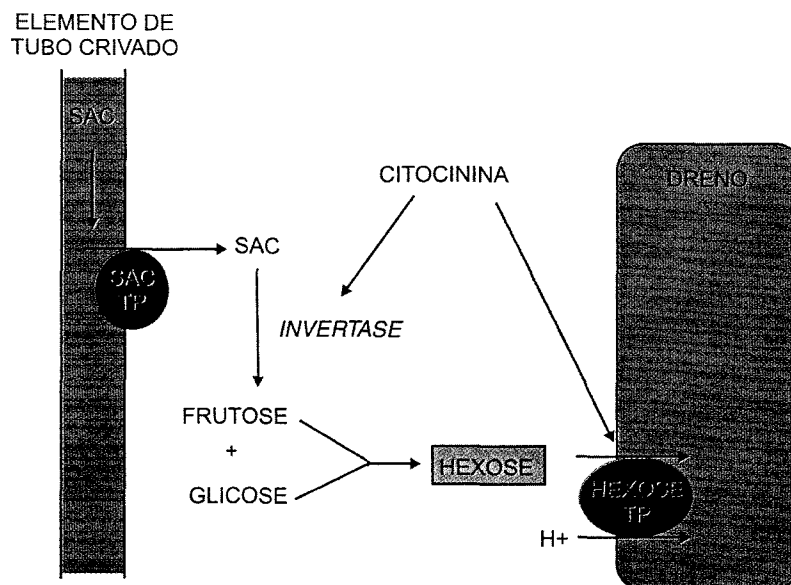


Fig. 9.11 Esquema representativo dos efeitos da citocinina no estabelecimento de drenos, por meio da ação sobre a enzima invertase e um transportador de hexose. A invertase diminui o potencial químico da sacarose na região do descarregamento, favorecendo uma chegada contínua desse nutriente. Ao mesmo tempo, o transportador de hexose é necessário para que os açúcares entrem nas células do dreno. SAC, sacarose; TP, transportador. (Modificado de Roitsch & Ehneb, 2000.)

des 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 radiativamente 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 quando raízes adventícias se formavam na base destes, além do que a longevidade foliar era aumentada de forma proeminente (Fig. 9.12). Estava assim 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 em pequenas áreas do limbo, apenas estas se mantinham verdes, enquanto, em todo o restante da folha, tinha continuidade o processo de senescência (Fig. 9.13). 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, nitidamen-

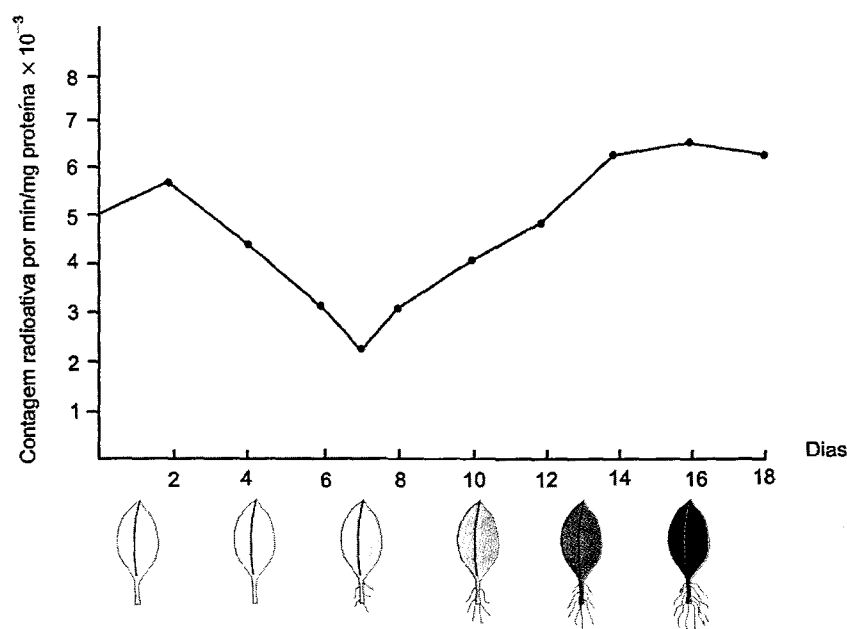


Fig. 9.12 Capacidade de síntese de proteína em folhas destacadas de tabaco, medida antes e depois da formação de raízes adventícias através do uso de metionina marcada (S^{35}). (Modificado de von B. Parthier, *Flora Jena*, 154:230, 1984.)

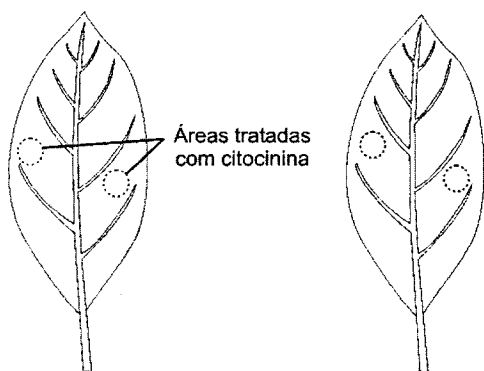


Fig. 9.13 Efeito da inibição localizada da senescência de tabaco de folhas tratadas com uma solução de citocinina.

te, 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 fotomorfogênese, 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. 9.14.

*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.

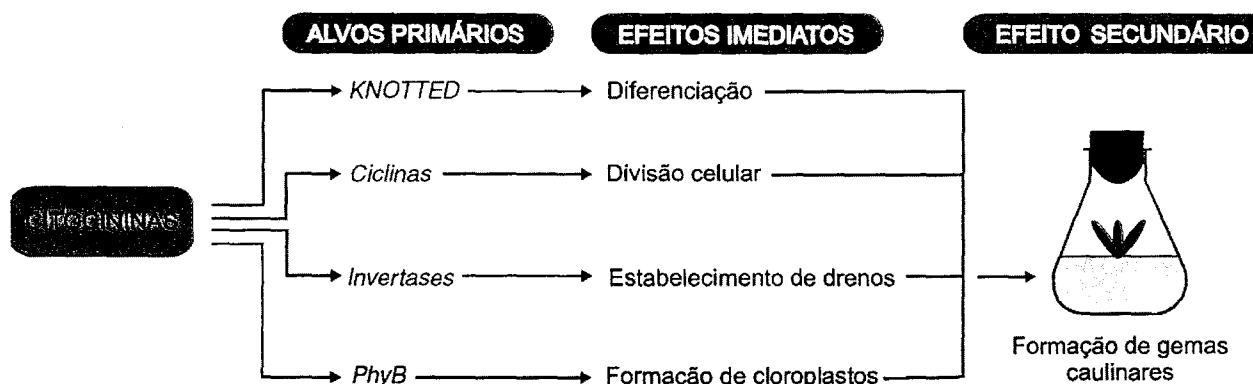


Fig. 9.14 Integração presumível de alguns dos diversos efeitos das citocininas. A atuação das citocininas em alvos primários, como os genes homeóticos (*knotted*), ciclinas, invertases e fitocromo, provocaria efeitos imediatos na diferenciação, divisão celular etc., os quais, por sua vez e de modo conjunto, promoveriam efeitos secundários e macroscópicos, como a formação de gemas caulinares.

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 discutir outros efeitos das citocininas, será considerada, brevemente, a interação desses hormônios com outras classes hormonais.

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 50, 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 diferentes 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. 9.15). 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. 9.15). 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.

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

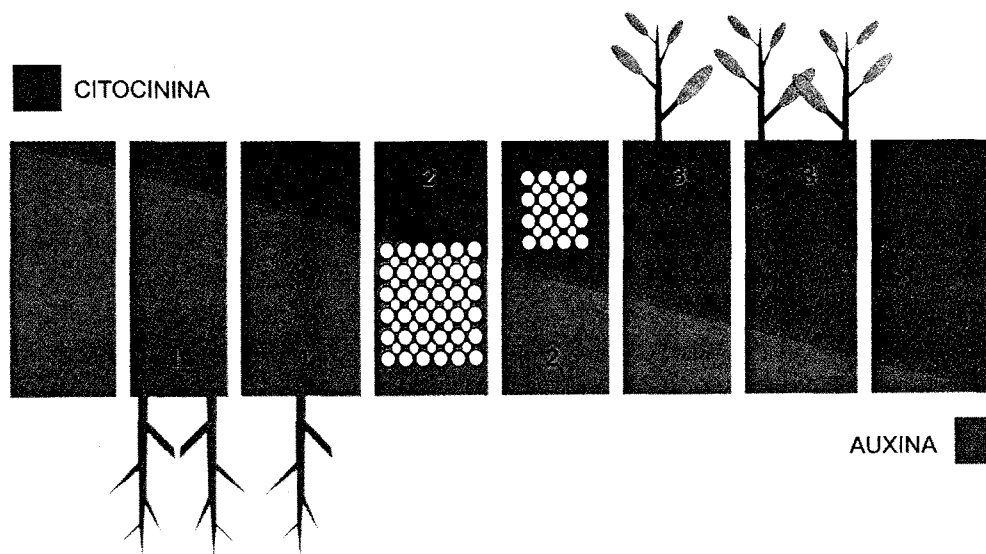


Fig. 9.15 Interação entre auxina e citocinina na indução de raízes (1), calos (2) e caules (3), segundo o modelo proposto por Skoog & Miller (1957). Cada retângulo representa um explante com um balanço auxina/citocinina endógeno específico, o qual costuma ser o reflexo das quantidades de hormônios adicionados ao meio de cultivo.

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. 12, 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 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. 12, 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-embriônico,

ou seja, a maior parte do desenvolvimento ontogênico 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 fa-

vorável 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 ao 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. 9.16). Isso posto, não seria exagero dizer que a arquitetura final

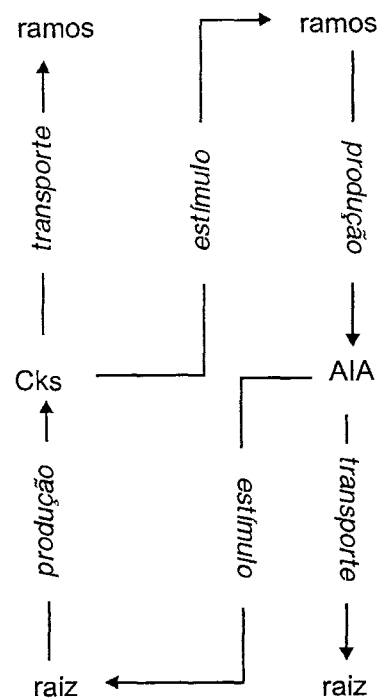


Fig. 9.16 Crescimento integrado entre caules e raízes promovido pelos mecanismos de produção, transporte e efeito das citocininas (Cks) e auxina (AIA). As Cks produzidas nos ápices radiculares e transportadas pelo xilema induzem a formação de ramos. Os novos ramos são fontes de AIA que, por sua vez, estimulam a produção de novas raízes. Na foto ao lado, 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.

da planta depende, em boa parte, da interação entre os sistemas caulinares e radiculares, e que a interação entre a citocinina e 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.

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 encontra-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 proces-

sos 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 conseqüências 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 fisiolo-

lógicos, 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

conseqüência 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 contraste, 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 citocininas ativas. Isso foi demonstrado com plantas transgênicas de tabaco superexpressando o gene *zogl*, 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 citoci-

*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.

ninas 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.

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. 9.17), coincide com uma elevação rápida de cerca de oito vezes na concentração de citocininas endógenas (Suzuki, R.M., trabalho de doutorado). No referido experimento, a elevação transiente do nível endógeno de citocinina parece estar associada à quebra da dominância do pseudobulbo, um órgão de reserva em orquídeas, e ao conseqüente 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



Fig. 9.17 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. (Rogério M. Suzuki, trabalho de doutorado – Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP.)

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.

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). Isso sugere que as plantas elevariam a con-

centração de Cks nas raízes em resposta ao nitrato, 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. 9.18). A aplicação de benziladenina em plantas de *Dendrobium*, bem como em outros gêneros de orquídeas tropicais, tem-se mostrado eficiente na floração. Mesmo 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 (Ferrei-

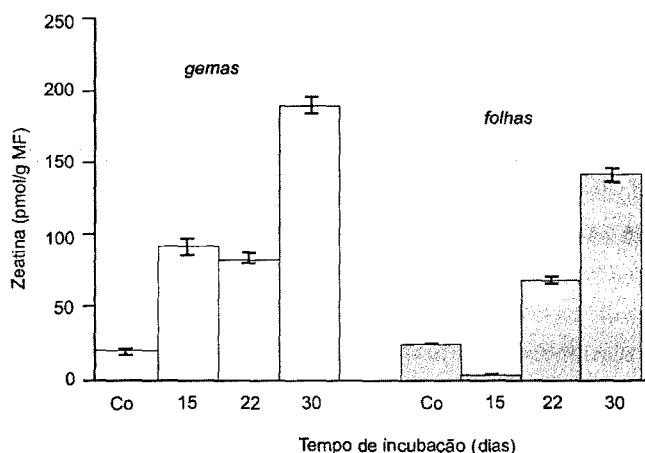


Fig. 9.18 Variações dos teores endógenos de zeatina em gemas laterais e folha de plantas de *Dendrobium* "Second Love" (Orchidaceae), incubadas a 10°C (escuro) e 25°C (claro), durante 30 dias. MF, matéria fresca; Co, controle sem incubar. As barras indicam o erro padrão das médias. (Kátia O. Campos, dissertação – Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP.)

ra, W.M., trabalho de doutorado – IBUSP). Reforçando ainda o efeito promotor de tratamento termoperiódicos 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. 16, Floração).

A despeito 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. 9.19). Além das fasciações, os fungos produtores de citocininas também podem induzir a formação das conhecidas "ilhas verdes" (Fig. 9.19) nos locais infectados. A inibição da senescência e o estabelecimento de drenos característicos das "ilhas verdes", assim



Fig. 9.19 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 mangueira (*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 pernicioso*. (Foto: Prof. Dr. Antônio Figueira – CENA/USP.)

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 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 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 inter cruzadas. Em ambos 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 apli-

cação 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. 9.20). As plantas transgênicas expressando esse sistema possuem folhas que permanecem funcionais na realização da fotossíntese por um período prolongado, 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 positiva-

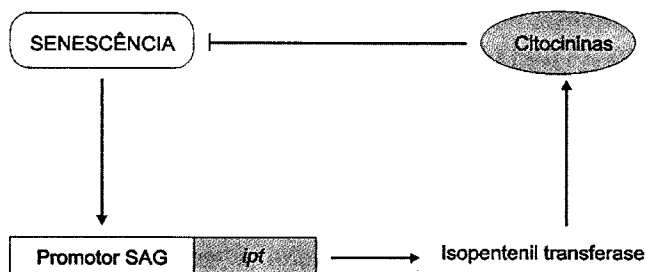


Fig. 9.20 Sistema auto-regulado, para inibição de senescência em folhas de tabaco, representado pela ligação do promotor SAG ao gene *ipt*, responsável pela síntese da enzima isopentenil transferase. Nesse sistema, o início da senescência desencadeia a produção de citocininas, as quais são inibidoras 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.)

mente o chamado índice de colheita (relação entre a MS da parte colhida sobre 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, confor-

me 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.
- 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.
- Takei K, Sakakibara H, Sygiyama 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, Sygiyama 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.
- 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, Strnard 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.
- Megaw 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

HISTÓRICO E OCORRÊNCIA

Ao longo da década de 20, agricultores japoneses relataram aos pesquisadores a ocorrência de uma moléstia que causava crescimento anormal das plantas de arroz e, ao mesmo tempo, prejudicava a produção de sementes. Nessa época, fitopatologistas detectaram que esse crescimento anormal era provocado por uma substância excretada pelo fungo infectante *Gibberella fujikuroi*, a qual, depois de isolada, foi denominada giberelina.

Na década de 30, ainda no Japão, foram obtidos cristais de outros dois compostos ativos, de origem fúngica, denominados giberelina A e B. Na década de 50, dois grupos, na Imperial Chemical Industries (ICI), na Inglaterra, e no Departamento de Agricultura (USDA) dos EUA, elucidaram a estrutura química do material purificado a partir de filtrados do fungo, denominando-o de ácido giberélico (Fig. 10.1). Nessa mesma época, na Universidade de Tóquio, foram isoladas, a partir da giberelina A, três novas giberelinas: A₁, A₂ e A₃ (Taiz e Zeiger, 1998).

A partir daí foram identificadas mais de 100 giberelinas, revelando a existência de uma ampla gama de diferentes formas, nas quais o ácido giberélico é o principal componente. Independentemente da forma, a característica comum a todas as giberelinas é o fato de que todas elas são derivadas da estrutura do anel *ent*-kaurênico (Fig. 10.1).

Os estudos associados à biossíntese e ao papel fisiológico dessa classe de hormônios vegetais tornam-se facilitados pela existência de mutantes deficientes na produção de ácido giberélico. O fungo *Gibberella fujikuroi*, as sementes imaturas de algumas espécies, como ervilha, feijão e abóbora, e os tecidos vegetativos do milho são considerados fontes preferenciais de síntese de giberelinas e, como tais, são considerados sistemas de referências para estudos do seu metabolismo.

A disponibilidade de ácido giberélico permitiu o estudo de seus efeitos em ampla gama de espécies de plantas. Em plantas anãs de *Pisum sativum* e *Zea mays*, a aplicação de ácido giberélico permitiu a reversão do nanismo genético, confirmando-se, posteriormente, que o crescimento normal dessas plantas é regulado por essa substância.

BIOSSÍNTESE

Diferentemente dos outros hormônios vegetais, as giberelinas são definidas mais por sua estrutura química do que por sua atividade biológica. Todas as giberelinas são diterpenóides tetracíclicos constituídos de quatro unidades de isoprenóides. A unidade biológica isopreno é o isopentenilpirofosfato (IPP). Até pouco tempo, acreditava-se que o ácido mevalônico era o precursor imediato do IPP na biossíntese de todos os terpenóides. Contudo, foi demonstrada, recentemente, a existência de duas rotas de

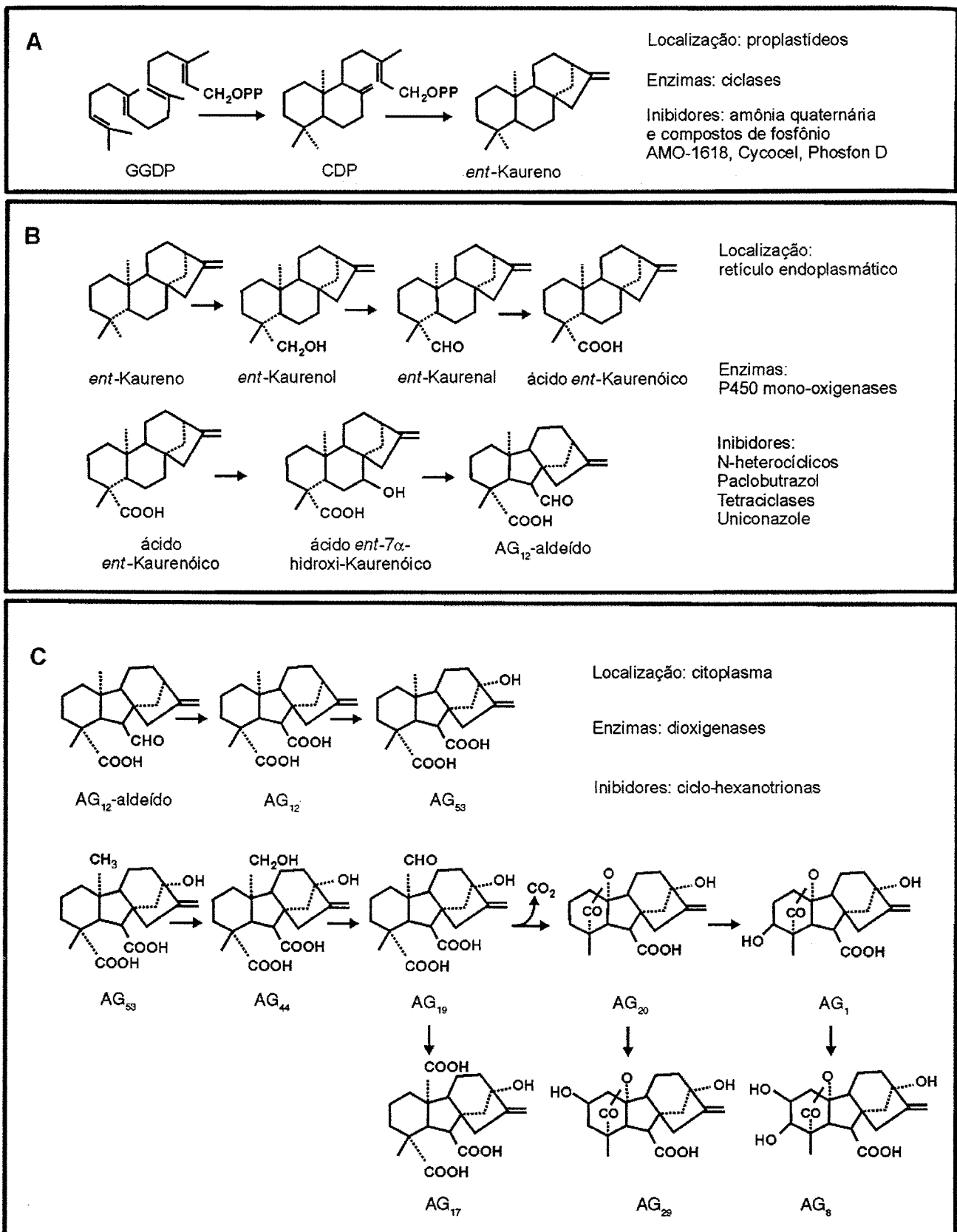


Fig. 10.1 Rota biossintética do AG. Para cada estágio são listadas as enzimas, bem como seus inibidores e sua localização.

A. Estágio 1: Conversão do geranylgeranyl difosfato (GGDP) a *ent*-kaureno. CDP: *ent*-copalil difosfato.

B. Estágio 2: de *ent*-kaureno a AG₁₂-aldeído.

C. Estágio 3: AG₁₂-aldeído a AG₁ e AG₈.

biossíntese de terpenóides: uma dependente e outra independente do ácido mevalônico. A primeira, associada à biossíntese do esterol, ocorre no citossol; a segunda, associada à biossíntese de carotenóides e compostos associados, ocorre no cloroplasto (Fig. 10.1). Considerando-se que as primeiras reações para a biossíntese de giberelinas ocorrem nos proplastídeos, o precursor IPP pode não ser originado do ácido mevalônico. Nos plastídeos, a rota biossintética de terpenóides que resulta na síntese do IPP ocorre preferencialmente a partir do gliceraldeído-3-fosfato e do piruvato.

Independentemente da origem do IPP, as reações subsequentes são comuns aos domínios do citossol e plastídeos. Unidades de isopreno são sucessivamente adicionadas, produzindo o geranyl pirofosfato (C_{10}), o farnesil pirofosfato (C_{15}) e o geranylgeranyl pirofosfato (C_{20}).

Demonstrou-se que a rota biossintética do ácido giberélico, resumida na Fig. 10.1, pode ser dividida em três estágios, assim sumarizados.

ESTÁGIO 1: GERANILGERANIL DIFOSFATO A ENT-KAURENO

Envolve a ciclização do geranylgeranyl difosfato a *ent*-copalil difosfato, que é convertido a *ent*-kaureno (Fig. 10.1A), cuja reação é catalisada pelas enzimas *ent*-copalil difosfato sintase e *ent*-kaureno sintase. Os genes que codificam para essas enzimas foram clonados em *Arabidopsis thaliana* e no endosperma de sementes de abóbora. Estudos bioquímicos revelaram que essas duas enzimas estão presentes nos proplastídeos dos meristemas apicais caulinares, mas não nos cloroplastos maduros. Considerando que as conversões no estágio 3 ocorrem em folhas maduras, supõe-se que compostos intermediários são translocados entre os diferentes tecidos e órgãos. A expressão do AG_1 em *Arabidopsis thaliana* é regulada durante o crescimento e desenvolvimento. Estudos empregando β -glucuronidase como gene repórter revelam que essa expressão é maior nos ápices caulinares e radiculares, bem como nos tecidos vasculares das folhas.

ESTÁGIO 2: ENT-KAURENO A AG_{12} -ALDEÍDO

As enzimas envolvidas nesse estágio são monooxigenases de domínio de membrana, provavelmente

te presentes no retículo endoplasmático. A oxidação seqüencial do C-19 do *ent*-kaureno a ácido *ent*-kaurenóico é seguida por oxidação a ácido *ent*-7 α -kaurenóico (Fig. 10.1B). A contração do anel B, com extrusão do C-7, dá origem ao AG_{12} -aldeído.

ESTÁGIO 3: AG_{12} -ALDEÍDO A GIBERELINAS

Esse estágio se inicia com a oxidação do AG_{12} -aldeído a AG_{12} , cujo metabolismo subsequente varia entre diferentes espécies e mesmo entre órgãos da mesma espécie, no que tange à posição e seqüência dos eventos oxidativos. Após a hidroxilação do C-13, o C-20 é sucessivamente oxidado e eliminado pela enzima AG_{20} oxidase, resultando no AG_{20} (Fig. 10.1C), o qual é finalmente convertido ao AG_1 bioativo pela enzima 3β -hidroxilase. Todos esses eventos oxidativos são catalisados por dioxigenases dependentes de 2-oxoglutarato e O_2 , como substratos, e Fe^{2+} e ascorbato como co-fatores.

Nas plantas superiores, tem sido sugerida a existência de, pelo menos, três sítios para a biossíntese das giberelinas: frutos e sementes em desenvolvimento, zona de alongamento da gema apical caulinar e raízes. Nas sementes existem duas fases principais de biossíntese. 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 uma grande acumulação de giberelinas nas sementes. Assim, a maior parte dos estudos de biossíntese emprega células livres obtidas de partes das sementes, como o endosperma e cotilédones. O uso desses sistemas de células livres reduz os problemas associados com o acesso do substrato no tecido e, além disso, permite avançar nos estudos das propriedades bioquímicas das enzimas associadas.

Os estudos metabólicos das giberelinas têm sido conduzidos principalmente com *Pisum* e *Cucurbita*, e, mesmo considerando o risco de generalizações, algumas inferências podem ser feitas. As rotas metabólicas das giberelinas em sementes em maturação são complexas e levam à acumulação de grandes quantidades de giberelinas hidroxiladas e polihidroxiladas. Duas posições para hidroxilação no anel são particu-

larmente comuns; 3 β e 13-hidroxilação. A primeira ainda não foi observada em sementes de *Pisum*, e a segunda, pouco observada em *Cucurbita*. Essas hidroxilações foram observadas em quase todos os outros gêneros e, de forma geral, o metabolismo das giberelinas evolui de forma paralela ao desenvolvimento das sementes; assim, as giberelinas polares e altamente oxidadas que ocorrem posteriormente na seqüência metabólica acumulam-se nos estágios tardios do desenvolvimento das sementes. De maneira geral, o metabolismo das giberelinas nas sementes é muito mais complexo do que aquele que ocorre nos brotos. Nas sementes, as giberelinas são mais abundantes e estruturalmente mais diversas. Hidroxilações múltiplas que geralmente ocorrem apenas nas sementes levam à acumulação de giberelinas poli-hidroxiladas em estágios específicos de desenvolvimento. A síntese dessas enzimas de hidroxilação parece ser geneticamente programada, havendo evidências de que essas giberelinas poli-hidroxiladas podem controlar o crescimento do fruto nos estágios iniciais do seu desenvolvimento.

De todas as giberelinas conhecidas, poucas delas são bioativas. A presença de um grupo 3 β -hidroxila, como no AG₁ e AG₄, é requisito para a bioatividade, como demonstrado para mutantes anões de ervilha e milho. Esses mutantes são deficientes na atividade da 3 β -hidroxilase, e a reativação do crescimento normal pode ser obtida pela aplicação do AG₁. Sabendo-se, então, que a 3 β -hidroxilação é requisito para a bioatividade, resta saber quais os fatores que controlam os níveis desses tipos de giberelinas nos tecidos-alvos da planta. De forma geral, esses fatores parecem estar associados a uma combinação nas taxas de síntese, degradação e transporte.

São conhecidos vários inibidores da biossíntese de giberelinas, os quais atuam em diferentes estágios da rota biossintética. Alguns inibidores, como o AMO-1618 e o cycocel, bloqueiam a síntese do *ent*-kaureno. Os inibidores ancimidol, tetraciclase, paclobutrazol e uniconazole bloqueiam a rota em um estágio posterior, associado à oxidação do *ent*-kaureno, impedindo o funcionamento adequado das mono-oxigenases P-450. 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 catalisadas por dioxigenases dependentes de 2-oxoglutarato. BX-112, ou seu ácido livre pró-hexadione, e LAB 198 999 são os compostos mais usados e, em baixas concentrações, agem como inibidores competitivos do 2-oxoglutarato.

A biossíntese de giberelinas é fortemente regulada por fatores ambientais, como fotoperíodo e temperatura, os quais podem alterar os níveis de giberelinas bioativas por afetarem passos específicos da rota biossintética.

CONJUGAÇÃO E INATIVAÇÃO

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 podem também ser uma forma de armazenamento de giberelinas.

Um resumo explicativo dos processos que contribuem para o estado de equilíbrio nos níveis de giberelinas bioativas é apresentado na Fig. 10.2.

Ao final do ciclo, as giberelinas bioativas são desativadas por 2 β -hidroxilação. Assim, AG₁ é convertido a AG₈, e AG₄ é convertido a AG₃₄. Conjugação a glicosil ésteres ou a glicosídeos pode ocorrer de forma predominante em sementes maduras.

TRANSPORTE

Em plântulas, as giberelinas armazenadas nas sementes são transportadas pelo floema nas formas livres ou conjugadas (Fig. 10.2). A partir das raízes, sítio secundário de biossíntese, as giberelinas são transportadas via xilema, sendo detectadas nos exsudatos do xilema das raízes e caules, quando esses órgãos são

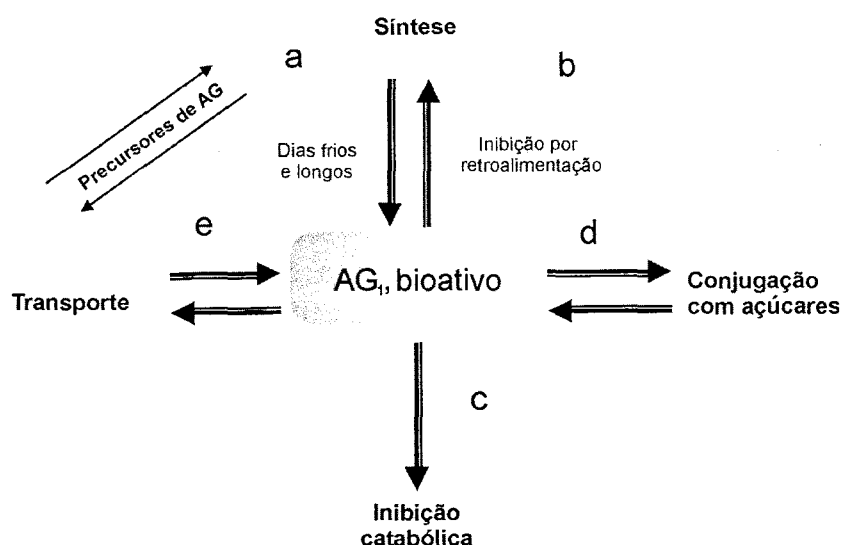


Fig. 10.2 Processos associados ao estado de equilíbrio de giberelinas ativas. A síntese de giberelinas ativas (formas livres), como o AG₁, é promovida por fatores ambientais, como o frio e os dias longos (a). De forma inversa, as giberelinas podem inibir sua própria biossíntese via inibição por retroalimentação (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. (Adaptado de Taiz & Zeiger, 1998.)

isolados. Inibidores da síntese de giberelinas reduzem os níveis desse hormônio nesses exsudatos. O isolamento continuado de parte do sistema radicular resulta em acentuado decréscimo nos níveis de giberelinas na parte aérea, sugerindo que parte das giberelinas aí presentes é suprida pelas raízes via xilema. Contudo, não existem evidências conclusivas de que as raízes sejam um sítio de síntese de giberelinas. Por outro lado, tem sido sugerido que o transporte polar, a partir de folhas jovens, não envolve tecidos vasculares, mas sim o córtex e a medula.

Os compostos intermediários da síntese de giberelinas também podem ser transportados. Sabe-se que frutos e sementes em desenvolvimento apresentam os maiores níveis desse hormônio; contudo, não há evidências de que as giberelinas ativas presentes nas sementes são empregadas para o crescimento das plântulas, uma vez que seus níveis normalmente decrescem para níveis reduzidos em sementes maduras. Estas apresentam níveis elevados de AG₁₂-aldeído, que é convertido em giberelinas ativas nos estágios iniciais da germinação. Trabalhos realizados com plântulas de ervilha revelaram a presença de giberelinas prefe-

rencialmente em gemas jovens, folhas jovens e entrenós imaturos, cujos tecidos também parecem ser sítios de síntese de giberelinas, as quais são sintetizadas nos brotos e transportadas ao resto da planta via floema. Tem sido proposto que os estágios iniciais da biossíntese das giberelinas pode ocorrer em um tecido, e o passo subsequente do metabolismo, em outro. Assim, em cloroplastos maduros não ocorre o estágio 1 da reação de biossíntese (Fig. 10.1) e, portanto, essa reação não pode ocorrer nas células do mesófilo foliar, embora elas sejam capazes de permitir as reações do estágio 3. Essas diferenças sugerem que intermediários da biossíntese podem ser transportados dos tecidos meristemáticos caulinares apicais para as folhas jovens, onde são convertidos em giberelinas ativas.

MECANISMOS E MODO DE AÇÃO

Alongamento e divisão celular

Há fortes evidências experimentais de que as auxinas e giberelinas promovam o alongamento celular por exercerem efeitos sobre a parede celular. A re-

lação entre esses dois hormônios quanto a esse fenômeno ainda é controversa. Foi sugerido que o crescimento estimulado por auxinas poderia ser observado apenas em tecidos isolados isentos desse hormônio, enquanto o AG poderia induzir o crescimento em plantas intactas. Evidências mais conclusivas revelaram que esses dois hormônios atuam separadamente no alongamento de caules. O AG promove a divisão e o alongamento celular preferencialmente em células jovens. Por sua vez, as auxinas promovem a extensão celular.

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 perpendiculares à direção do crescimento. A indução do alongamento celular pelo AG 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 re-orientação da deposição das microfibrilas de celulose, da posição oblíqua/longitudinal para a posição transversal, promovendo assim o alongamento das células que param de crescer. Isso poderia explicar por que a ação do AG ocorre preferencialmente no meristema, onde promove o alongamento e, talvez, indiretamente, a divisão celular, enquanto as auxinas podem promover o alongamento de células mais velhas (Jacobs, 1997).

O aumento da plasticidade da parede celular ocorre mediado pelas giberelinas. Em entre-nós 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 AG₃ foi 15 vezes superior ao crescimento observado nos tratamentos sem AG₃. 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.

Regulação do crescimento, floração e ciclo celular

Plantas de arroz submetidas a inundação freqüente têm sido empregadas como modelo de estudos para

o estímulo da divisão celular mediada pelo AG. Em condições de inundação, essas plantas aumentam rapidamente a taxa de crescimento, a qual ocorre principalmente no meristema intercalar de entre-nós 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 do AG. Em decorrência disso, o tecido torna-se mais responsivo ao AG endógeno.

As giberelinas possuem também 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 (entre-nós bastante curtos). A maioria das dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas e coníferas cresce mais rápido quando tratadas com determinadas giberelinas. Em Pinaceae, por exemplo, algumas espécies respondem pouco ao AG₃, mas crescem em resposta a uma mistura de AG₄ e AG₇. Por outro lado, espécies com crescimento em roseta podem alcançar até 2 m de altura e florescer em resposta à aplicação de AG₃, enquanto as plantas não tratadas permanecem no estágio de roseta. Espécies de *Cucurbitaceas* alongam-se com maior rapidez em resposta à aplicação de giberelinas que não apresentam o grupo hidroxila no carbono 13.

A aplicação exógena de giberelinas permite que mutantes anões de milho cresçam tanto quanto as variedades normais. Essas mutações controlam enzimas associadas à síntese das giberelinas e resultam em plantas mutantes para a síntese de giberelina. Estudos revelaram que somente o AG₁ controla o alongamento do colmo e que todos os mutantes anões não produzem a enzima para transformar outras giberelinas em AG₁. Em decorrência disso, observou-se, posteriormente, que o AG₁ é a principal giberelina associada ao alongamento caulinar de várias outras espécies, como nabo, tomate, arroz e trigo. Também foram descobertos mutantes para a sensibilidade a giberelinas em milho e trigo, entre outros (Reid, 1990). Esses mutantes apresentam níveis adequados de AG₁ para permitir o crescimento normal, porém não respondem a ele, sugerindo a existência de problemas relacionados à carência de receptores protéicos.

As giberelinas exógenas podem substituir a indução fotoperiódica ao serem aplicadas em plantas de dias longos que crescem na forma de roseta quando sob dias curtos. Nessas plantas, a floração é acompanhada pelo alongamento do caule, eventos esses considerados independentes. Também a aplicação de giberelinas pode induzir a floração em algumas plantas de dias curtos em condições não-indutivas, bem como pode substituir parcial ou totalmente os efeitos desencadeados pelas baixas temperaturas em plantas com requerimentos de frio para a floração (ver Cap. 16, Floração).

O comprimento do dia exerce efeitos no metabolismo do AG, 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 rota 13-hidroxilada. O aumento de cinco vezes nos níveis de uma dessas giberelinas (AG_1) causa o alongamento do caule que antecede a floração (ver Cap. 16, Floração).

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 G_1 e G_2 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 G_1 do ciclo celular, enquanto 10 e 7% dos núcleos encontravam-se nas fases S e G_2 , respectivamente (Fig. 10.3). Nas primeiras 4 horas após o tratamento com GA, observou-se uma redução na proporção de núcleos nas fases G_2 e S, bem como um aumento na proporção de núcleos em G_1 .

Com base nos resultados obtidos e considerando a cinética de crescimento e a dinâmica do ciclo celular, Sauter e Kende (1992) propuseram que o efeito primário do AG 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 que, em consequência, estão na fase G_2 do ciclo celular. Depois de 7 horas do tratamento com AG, observa-se um aumento no número de células que estão na fase G_2 , aspecto esse que indica um estímulo geral para a divisão celular.

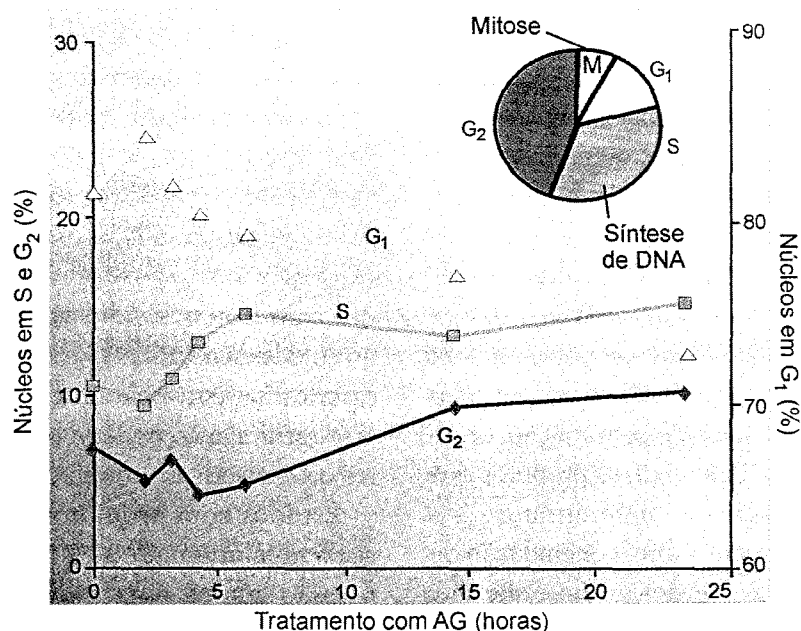


Fig. 10.3 Alterações no ciclo celular de núcleos do meristema intercalar de entre-nós de arroz em resposta ao tratamento com AG. Observar as fases e escalas do ciclo celular na parte superior. (Adaptado de Sauter e Kende, 1992.)

O fato de ocorrer uma diminuição no número de células em G_2 depois de 4 horas do tratamento com AG sugere que esse hormônio regula o ciclo celular na transição entre a mitose e a fase G_2 .

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 ativação mitótica, sugerindo que o AG estimula a divisão celular aumentando os níveis de uma proteína cinase específica do ciclo de divisão celular (Cdc2), bem como de ciclinas M necessárias para a entrada em mitose.

Mobilização de reservas de endosperma

Aparentemente, os mecanismos bioquímicos e moleculares são comuns a todas as respostas mediadas pelo AG. Um dos sistemas mais estudados é a indução pelo AG da síntese e secreção de α -amilase na camada de aleurona de cereais, envolvendo a presença de receptores para esse hormônio, a rota de transdução de sinais envolvidos na síntese e secreção de α -amilase e a regulação da transcrição de genes para a α -amilase.

O endosperma dos cereais é composto pelo endosperma amiláceo e pela camada de aleurona, a qual circunda o endosperma amiláceo e contém numerosos corpos protéicos, bem como vesículas armazenadoras de lipídios, os oleossomos. A camada de aleurona é um tecido cuja função limita-se à síntese e secreção de enzimas hidrolíticas. Os compostos de reserva da semente são metabolizados por enzimas hidrolíticas durante o processo de germinação, originando açúcares, aminoácidos e outros produtos que são transportados ao embrião em germinação. As enzimas α e β -amilase 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 60 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 da 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. 10.4).

A produção da α -amilase estimulada pelo AG pode ser analisada sob os aspectos associados à localização dos seus receptores, à sua ação sobre a regulação da expressão de genes para a α -amilase, bem como às rotas de transdução de sinais que levam à expressão desses genes.

Os estudos sobre receptores de AG revelaram que as proteínas heterotriméricas G poderiam estar associadas aos eventos iniciais de sinalização do AG nas células da camada de aleurona (Jones *et al.*, 1998). Assim, foi possível sugerir um modelo de ação do AG, baseado na ligação deste a um receptor localizado na face interna da membrana, seguido pela interação do complexo AG-receptor a uma proteína heterotrimérica G.

As evidências de que o AG poderia aumentar a produção de α -amilase em nível de transcrição (Jacobsen *et al.*, 1995) foram reforçadas pelos estudos com isótopos radioativos, que revelaram que a atividade da α -amilase, estimulada pelo AG, ocorria prioritariamente pela síntese *de novo* da enzima e que essa estimulação poderia ser bloqueada por inibidores da transcrição e da tradução.

Estudos com promotores de α -amilase em cereais revelaram que as seqüências associadas à expressão gênica para a α -amilase em resposta ao AG estão entre 200 e 300 pares de bases antes do início da região codificadora (Fig. 10.5). Uma seqüência específica (TAACAAA), chamada de

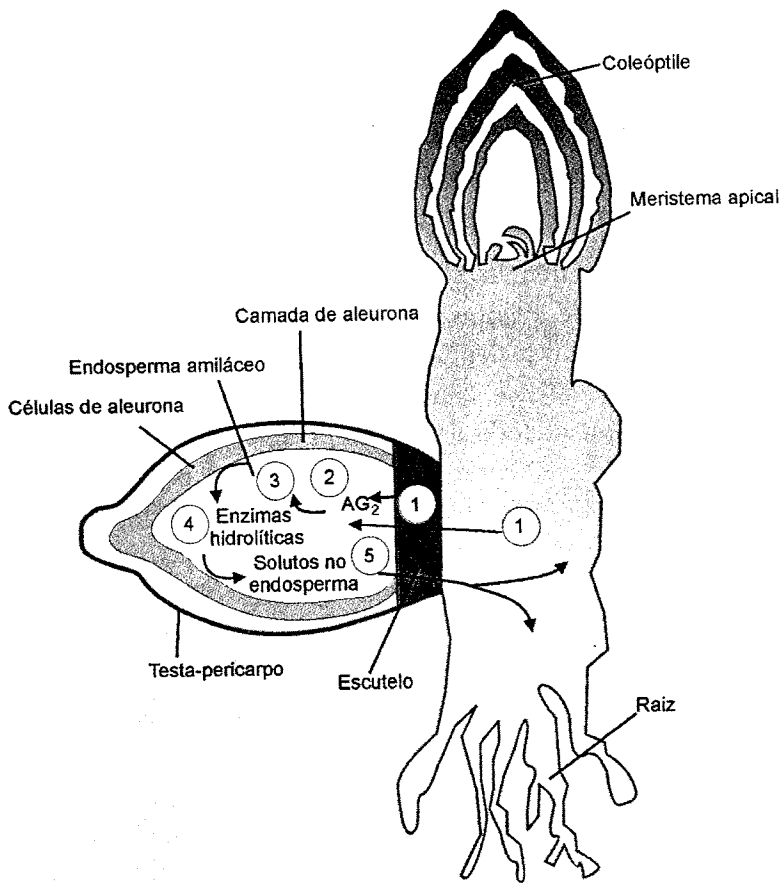


Fig. 10.4 Representação esquemática da semente da cevada em germinação e estrutura funcional de seus principais tecidos. ① Giberelinas são sintetizadas pelo coleóptile e escutelo do embrião e difundidas ao endosperma amiláceo e à camada de aleurona ②, a qual é induzida a produzir e secretar α -amilase 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.

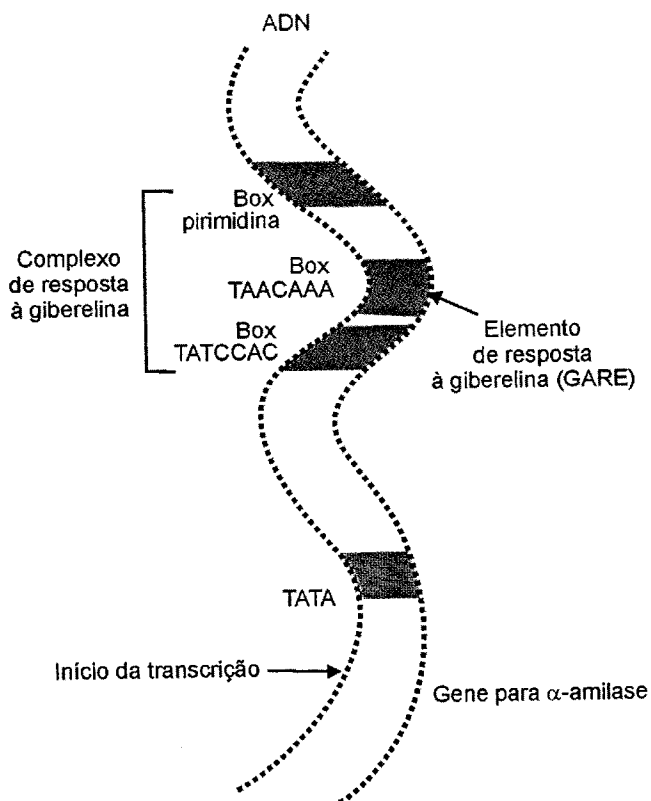


Fig. 10.5 Representação da região promotora do gene para a α -amilase, mostrando o complexo de resposta ao AG, o box TATA (timina-adenina) e o sítio de início de transcrição. (Adaptado de Jacobsen *et al.*, 1995.)

seqüência de resposta a 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, supondo-se a existência de uma interação de fatores de transcrição do CRG no box TATA.

Demonstrou-se que as giberelinas induzem a síntese de fatores de transcrição, os quais estão associados com a regulação da expressão gênica durante a morfogênese vegetal. Assim, o AG estimula a expressão do gene AG-MYB e a proteína decorrente atua como reguladora transcricional do gene para a α -amilase. A ativação de fatores de transcrição está associada a eventos de fosforilação de proteínas que ocorrem ao final da rota de transdução de sinais.

A ativação da resposta primária do gene AG-MYB envolve passos intermediários relacionados com a ligação do AG ao receptor de membrana. Íons de cálcio são considerados mensageiros secundários para vários hormônios, e, em protoplastos de aleurona de cevada, observou-se um aumento na concentração de Ca²⁺ no citossol em resposta ao AG. 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 o AG estimula a secreção de α -amilase e outras hidrolases por uma rota dependente de cálcio, enquanto o estímulo pelo AG da expressão do gene da α -amilase ocorre por uma rota independente do cálcio. Essa rota possivelmente se encontra associada ao GMP cíclico, que é considerado mensageiro secundário em uma série de respostas reguladas pela expressão gênica. Em camadas de aleurona de cevada, o AG causa uma elevação nos níveis de GMP cíclico depois de 1 hora (Penson *et al.*, 1996). Um modelo esquemático dos fatores bioquímicos e genéticos envolvidos com a síntese e secreção da α -amilase encontra-se resumido na Fig. 10.6.

EFEITOS FISIOLÓGICOS E APLICAÇÕES

Mudança de fase, indução 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*. O AG pode 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. 16, Floração).

Em plantas monóicas (produtoras de flores masculinas e femininas ou hermafroditas), o AG tem efeitos 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 AG. 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 (Irish, 1996). 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 do AG com outros hormônios na regulação da determinação do sexo (Metzger, 1995).

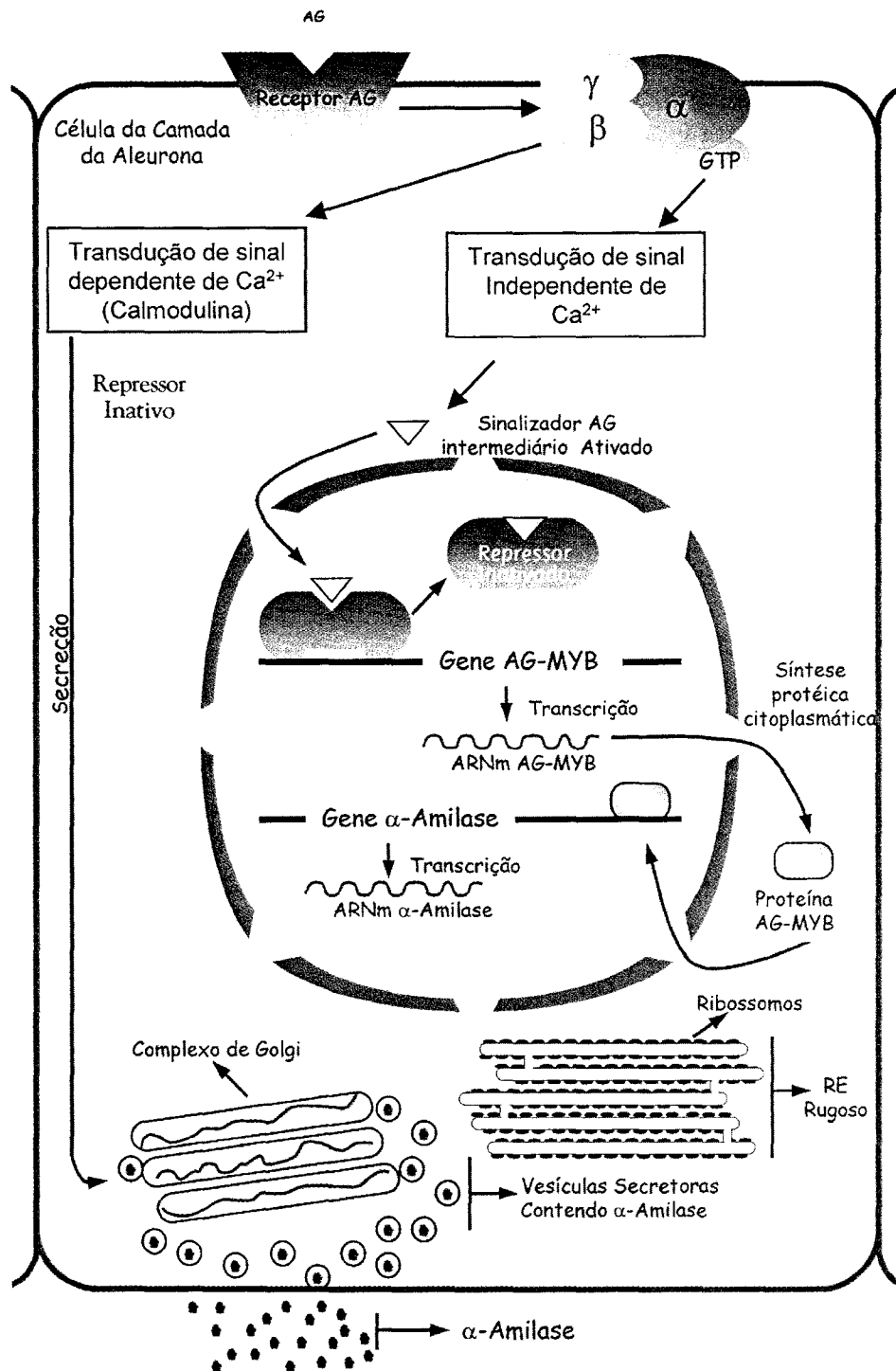


Fig. 10.6 Modelo proposto para a síntese de α -amilase induzida pela giberelina na camada de aleurona da cevada. (1) Ligação do AG_1 derivado do embrião a um receptor de membrana, desencadeando duas cadeias de transdução de sinais. (2) O complexo AG-receptor interage com uma proteína heterotrimérica G, dando início a duas cadeias de transdução de sinais. (3) Uma rota independente de cálcio promove a ativação de um sinal intermediário (4), o qual se liga à proteína repressora GAI, inativando-a (5). Essa inativação permite a expressão do gene AG-MYB (6), bem como de outros genes reprimidos, ocorrendo a transcrição e a tradução. No núcleo, a proteína AG-MYB (7) liga-se ao promotor do gene para o α -amilase (8), ativando a sua transcrição (9). As proteínas, depois de sintetizadas no RE rugoso (10), são secretadas via aparato de Golgi (11). A rota de secreção pode ser também estimulada pelo AG por meio de uma rota de transdução de sinais dependente de cálcio-calmodulina (12). (Adaptado de Taiz e Zeiger, 1998.)

Tem sido demonstrado 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.

Efeitos em frutos

Em algumas espécies ocorre uma acentuada queda de frutos depois da polinização, podendo as auxinas estimular a fixação e o crescimento destes. Contudo, nem todas as espécies respondem favoravelmente 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.

Em *Vitis vinifera*, cv. Itália, 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, possibilitando a obtenção de cachos mais saudáveis 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 sementes, embriões somáticos e gemas

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. Como as mudanças nos níveis endógenos desse hormônio nas sementes são normalmente observadas como resposta ao tratamento com baixas temperaturas, as giberelinas têm sido consideradas reguladoras naturais de processos relacionados com a germinação.

Tem sido proposto que as giberelinas não estão diretamente associadas ao controle da dormência e, sim, na promoção da germinação (Fig. 10.7). Assim, elas agiriam depois que a inibição mediada pelo ABA tenha sido superada (Bewley, 1997). Léon-Kloosterziel *et al.* (1996) sugeriram uma associação da ação desses dois hormônios, uma vez que, em sementes de mutantes de *Arabidopsis*, uma dormência fraca encontra-se associada à necessidade de baixos níveis de AG para se obter a germinação. Em sementes, as giberelinas, freqüentemente, em combinação com as cito-

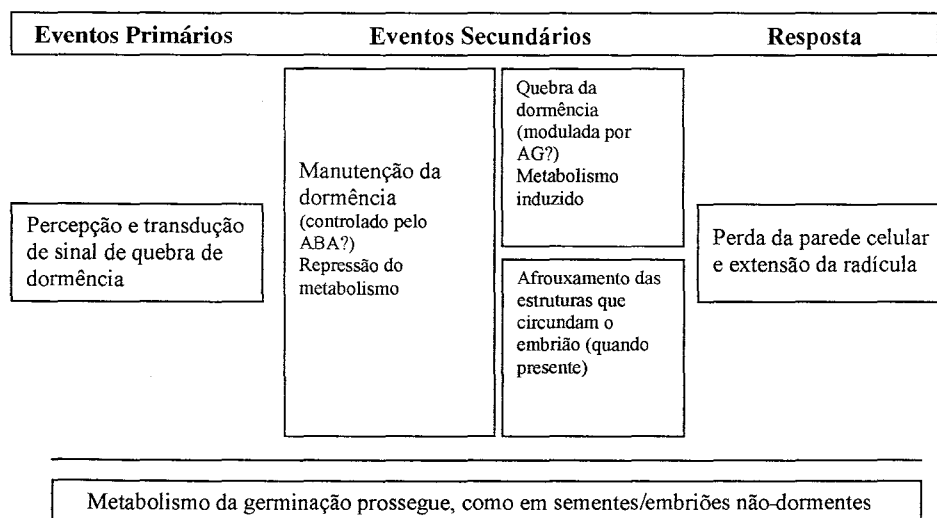


Fig. 10.7 Representação esquemática dos principais eventos associados à quebra de dormência em sementes.

cininas, podem substituir a necessidade de vários sinais ambientais, promover a germinação e minimizar os efeitos inibitórios do ABA. Em sementes de algumas espécies ocorre um aumento nos níveis de AG em resposta a um estímulo externo, mas não há evidências de que esse aumento seja importante para a quebra da dormência. De uma forma geral, o efeito principal do AG nas sementes parece estar associado à indução das enzimas que degradam o amido no endosperma, como descrito neste capítulo.

Como se sabe, as giberelinas estão envolvidas na superação da dormência de sementes e no controle da hidrólise de reservas. Sementes de lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller), embebidas por 18 horas em solução de 200 mg/l de AG₃, apresentaram um índice de germinação de 89,9% e um tempo médio de germinação 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.

A dormência das sementes de algumas espécies pode ser superada por uma combinação de baixas temperaturas, escarificação e aplicação de giberelinas. Sementes de *Koeleria paniculata* apresentam dormência endógena e exógena, e, nesse caso, o tratamento com 100 mg/l de AG resultou em uma taxa de germinação de 60% aos 30 dias, enquanto nenhuma semente não tratada germinou.

Na cultura de tecidos vegetais, a rota de embriogênese somática freqüentemente gera embriões somáticos que apresentam baixa taxa de germinação, para os quais o emprego do AG₃ no meio de cultura pode promover níveis adequados de conversão em plântulas. Esse é o caso da espécie 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 em frio também têm sido relatados. Plantas de azaléia (*Rhododendron pulchrum* e *R. scabrum*), pulverizadas com 500 mg/l de AG₃, tiveram a dormência de suas gemas florais quebrada aos 50 dias após a aplicação, enquanto as plantas-controle, 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.

Outras aplicações

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 da citocinina benziladenina resultou em uma vida média de pós-colheita apenas de 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 (Spósito *et al.*, 2000).

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 mgL⁻¹ 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 das bagas e no comprimento e largura das bagas de cultivar da uva de mesa Maria (Kalil *et al.*, 1999).

REFERÊNCIAS

- Bewley JD. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell*, 1997; 9:1055-1066.
- 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 agric*, 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, 1981. *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.
- Irish EE. Regulation of sex determination in maize. *BioEssays*, 1996; 18:363-369.
- Jacobs TW. Why do plant cells divide? *Plant Cell*, 1997; 9, 1021-1029.
- 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.
- Jones HD, Smith SJ, Desikan R, Plakidou-Dymock S, Lovegrove A, Hooley R. Heterotrimeric G proteins are implicated in gibberellin induction of α -amilase gene expression in wild oat aleurone layer. *Plant Cell*, 1998; 10:245-253.
- Kalil GPC, Terra MM, Kalil Filho AN, Macedo JLV, Pires EJP. Anelamento e ácido giberélico na frutificação da uva 'Maria' sem sementes. *Sci agric*, 1999; 56:317-328.
- Lenton JR, Appleford NEJ, Croker SJ. Gibberellin and α -amilase gene expression in germinating wheat grains. *Plant Growth Regulation*, 1994; 15:261-270.
- Léon-Kloosterziel KM, Van de Bunt GA, Zeevart JAD, Koornneef M. Arabidopsis mutants with reduced seed dormancy. *Plant Physiol*, 1996; 110:233-240.
- Metzger JD. Hormones and reproductive development. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer, Boston, 1995, pp 617-648.
- Penson SP, Schuurink RC, Fath A, Gubler F, Jacobsen JV, Jones RL. cGMP is required for gibberellic acid-induced gene expression in barley aleurone. *Plant Cell*, 1996; 8:2325-2333.
- Reid JB. Phytohormones mutants in plant research. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1990; 9:97-111.
- Sauter M, Kende H. Gibberellin-induced growth and regulation of cell cycle in deepwater rice. *Plant*, 1992; 188:362-368.
- Spósito MB, Mourão Filho FAA, Kluge RA, Jacomino AP. Armazenamento refrigerado de frutos de limeira-ácida 'Tahiti' tratados com ácido giberélico. *Rev Bras Frutic*, 2000; 22:345-348.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, 1998, 792p.

Ácido Abscísico

Eliane Stacciarini-Seraphin

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. 11.1), cuja descoberta ocorreu na década de 60, 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 de água, alta salinidade e temperaturas reduzidas.

Antes da década de 40, 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 coleóptiles, 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 tecidos vegetais, como, por exemplo, 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 60 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 substân-

cia 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 cols., 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 à 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 coleóptiles, apresentava propriedades semelhantes ao inibidor- β , e, através de seu isolamento 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. Os grupos de pesquisadores envolvidos nas investigações, durante a 6^a Conferência Internacional de Substâncias de Crescimento Vegetal, realizada em Ottawa, Canadá, em 1967, 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 na seiva do xilema, exsudato do floema e nectários.

Nas folhas, o ácido abscísico pode estar distribuído entre seus diferentes compartimentos — apoplasto, citosol, cloroplasto e vacúolo. Sendo 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 da célula-guarda. Após sua difusão, o ABAH se dissocia como ânion impermeável (ABA^-), sendo compartimentado no meio mais alcalino do citosol. O gradiente de pH através da membrana é um dos fatores que afetam a redistribuição de ABA nas folhas. Sob condições de déficit hídrico, a seiva do xilema e o fluido do apoplasto tornam-se mais alcalinos, causando uma diminuição no gradiente de pH entre o apoplasto e o simplasto. Isso provoca a liberação do ABA aprisionado no simplasto em direção ao apoplasto, e/ou previne sua saída deste último compartimento, onde, acumulado em teores mais elevados, exerce seu efeito.

A capacidade dos tecidos vegetais de compartimentar o ABA explica os níveis elevados desse hormônio nas folhas, mesmo sob condições de boa hidratação. 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.

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 biossíntese e degradação. 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 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 algumas 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 através da promoção do fechamento estomático, reduzindo a perda de água. Seu sítio de ação mais provável parece ser na superfície externa da membrana plasmática da célula-guarda, embora evidências indiretas apontem também para a existência de um receptor intracelular.

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 ao ABA.

Dentre os mutantes mais bem caracterizados estão os *viviparos* (*vp*) de milho (*Zea mays* L.); *flacca* (*flc*), *sitiens* (*sit*) e *notabilis* (*not*), de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.); *aba1* a *aba3* e *abi1* a *abi5* de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; *droopy* de batata (*Solanum phureja*); *wilty* de ervilha (*Pisum sativum* L.); *aba1* e *aba2* de *Nicotiana glauca*; 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 recentes sobre mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA podem ser encontradas em Taylor (1991), Thomas *et al.* (1997) e Leung & Giraudat (1998).

ESTRUTURA, PRINCIPAIS FORMAS E ATIVIDADE DO ABA

O ácido abscísico é um sesquiterpenóide (C_{15}) de peso molecular $264,3 \text{ g.mol}^{-1}$, formado por três unidades de isopreno. A cadeia lateral pentadienóica está ligada ao anel que contém um grupo hidroxílico e um grupo cetona nas posições C1' e C4', respectivamente (Fig. 11.1). Sua molécula apresenta um carbono assimétrico (estereogênico) na posição 1' do anel, conferindo falta de simetria molecular e garantindo sua atividade óptica, isto é, capacidade de desviar a luz polarizada. A forma natural do hormônio é positiva (+) porque o desvio da luz ocorre no sentido horário.

Diferentemente das giberelinas e citocininas que apresentam mais de uma forma natural com atividade biológica, o S (+)-ácido abscísico é a única forma natural e ativa do ABA.

Os dois enantiômeros, (+)-ABA (natural) e (-)-ABA (sintético), apresentam atividade biológica, porém diferentes taxas de catabolismo e produtos. Portanto, é importante especificar a forma usada experimentalmente: a pura natural (+) ou a mistura racêmica (\pm). A mistura racêmica (\pm)-ABA é a forma comercial mais acessível, enquanto a forma pura [(+) S-ABA] pode ser obtida a partir da cultura de fungos.

A melhor relação estabelecida entre a estrutura e a atividade do ABA é a presença das duplas ligações (C2 e C4) na cadeia lateral dienóica. Sua atividade depende da configuração C2-*cis* e C4-*trans*, pois o isômero (C2-*trans* e C4-*trans*) é inativo em experimentos conduzidos no escuro. No claro, entretanto, essa configuração também é ativa, provavelmente devido à isomerização do ABA na presença de luz. Enquanto a presença dos grupos car-

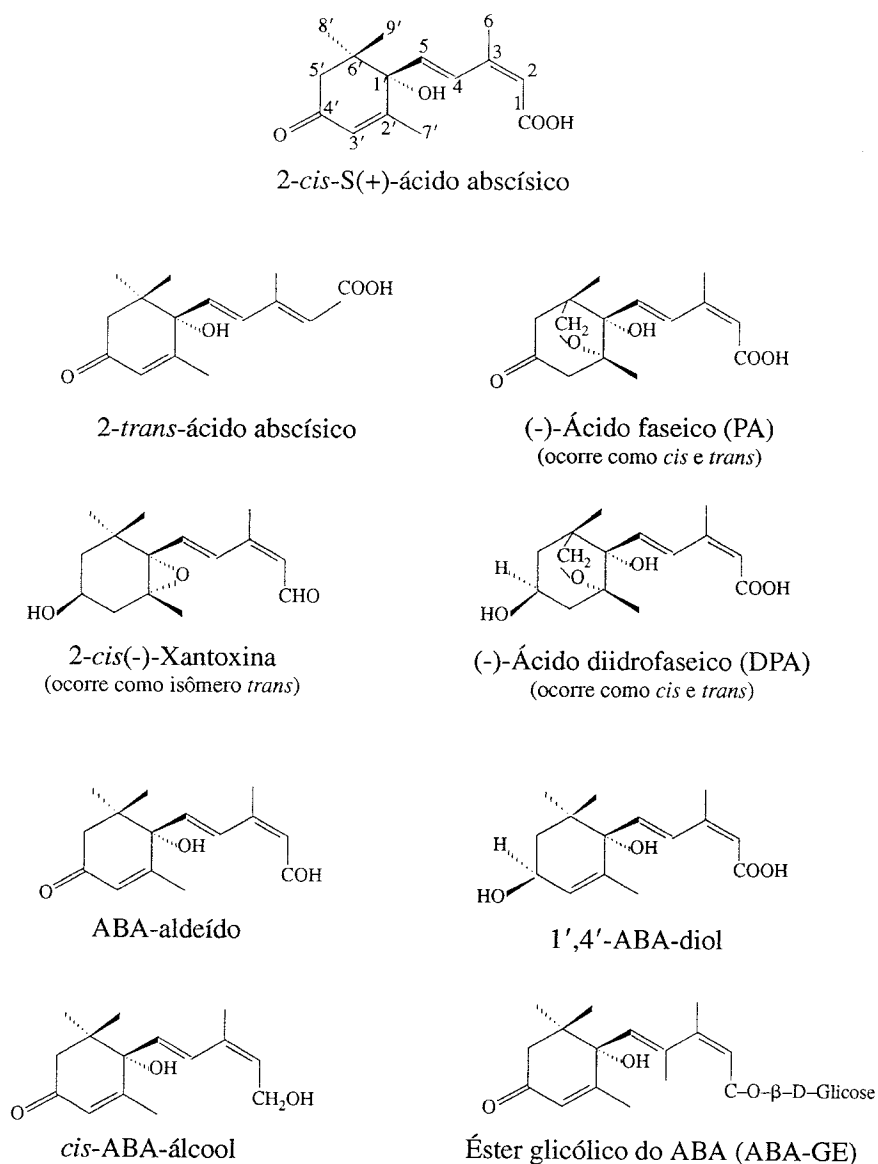


Fig. 11.1 Estrutura química e o sistema de numeração dos carbonos na molécula do 2-*cis*-S(+)-ácido abscísico (ABA) e compostos correlatos naturais que fazem parte da biossíntese e/ou degradação do ABA.

boxílico, hidroxílico e da configuração C4'-cetona é essencial para a ligação ao receptor e atividade biológica do ABA (Fig. 11.2), a nitrila e o álcool, quando presentes no C1, apresentam baixa atividade. O éster metílico é inativo nas respostas de curta duração, como nos biotestes de inibição de crescimento e fechamento estomático. Porém, nas respostas de longa duração, esse grupo pode apresentar atividade biológica, mas ela pode ser devida à liberação de ABA.

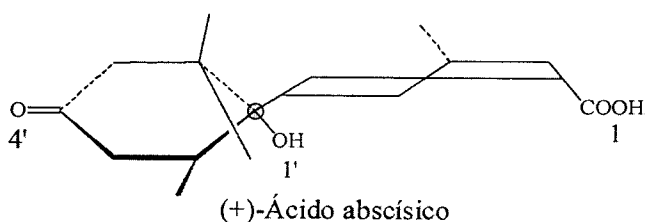


Fig. 11.2 Arranjo estrutural da molécula do (+)-ABA para a ligação ao receptor, destacando a importância dos grupos cetona (C4'), hidroxílico (C1') e carboxílico (C1). (Modificado de Ho, 1983.)

BIOSSÍNTESE E INATIVAÇÃO DO ABA

A biossíntese do ABA tem sido extensivamente estudada nas plantas vasculares e fungos — nestes últimos, especialmente nos gêneros *Cercospora* e *Botrytis*. Várias enzimas foram identificadas, e estão bem caracterizados os compostos intermediários envolvidos no processo, tanto em fungos quanto em plantas vasculares.

Nos fungos, a biossíntese do ABA ocorre através de uma via direta, na qual o precursor é o farnesil pirofosfato (FPP) de 15 carbonos (C_{15}). O FPP, sintetizado a partir do ácido mevalônico, origina o α -e/ou γ -ionilideno (C_{15}), que, após uma série de intermediários, variáveis nas diferentes espécies, formarão o 1'-desoxi-ABA, convertido posteriormente em ABA.

Nas plantas vasculares, inicialmente foram propostas duas vias biossintéticas possíveis para o ABA. Na primeira, classificada como via direta, o farnesil pirofosfato (FPP) origina o ABA diretamente, ou através do composto intermediário xantoxina (Xan). Atualmente, sabe-se que essa via tem pouca importância nas plantas vasculares.

Na via indireta, por sua vez, o ABA é sintetizado a partir da clivagem oxidativa de carotenóides oxigenados, precursores de 40C, como as xantofilas. Técnicas bioquímicas associadas à caracterização de mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA, bem como a clonagem de genes, indicam a rota indireta como a mais importante nas plantas.

Dentre essas pesquisas, podemos destacar os estudos com mutantes vivíparos (*vp*) de milho, cujas primeiras etapas da biossíntese de carotenóides são bloqueadas e apresentam deficiência em ABA. Inibidores químicos da síntese de carotenóides, como a fluridona e norflurazona, também resultam num menor acúmulo de ABA. A incorporação de $^{18}O_2$ na molécula do ABA, em folhas de *Phaseolus* e *Xanthium* submetidas a déficit hídrico, mostrou que o isótopo marcado foi inserido na posição C1 do grupo carbóxico, em vez de na posição 1' do anel, como ocorre no fungo *Cercospora risicola* através da via direta. Através desse resultado, Zeevaert e cols., em 1991, concluíram que, nas plantas, o 1'-desoxi-ABA não é

o precursor imediato do ABA, e que esse hormônio é sintetizado a partir de um precursor com oxigênio pré-formado. Outra evidência para a ocorrência da via biossintética indireta foi discutida por Li & Walton, em 1990, com folhas de feijão crescidas no escuro. Os autores identificaram a 9'-*cis*-neoxantina e a 9-*cis*-violaxantina como precursores do ABA.

A confirmação da via indireta como a principal rota biossintética do ABA e a recente descoberta da síntese do isopentenil pirofosfato nos plastídeos permitiram afirmar que a síntese do ácido abscísico não ocorre necessariamente a partir do ácido mevalônico.

Didaticamente, pode-se dividir a biossíntese do ABA em três etapas: (1) síntese dos carotenóides não-oxigenados nos plastídeos; (2) síntese e clivagem dos carotenóides oxigenados (xantofilas) nos plastídeos, constituindo estoque de precursores do ABA; e (3) síntese do 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 isopentenil pirofosfato (IPP). O IPP, por sua vez, é sintetizado via 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXP), a partir do piruvato e do gliceraldeído-3-fosfato (Fig. 11.3). A enzima que catalisa essa reação é a sintase da 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXS), sendo a primeira da biossíntese do IPP na rota independente do ácido mevalônico. No citossol, entretanto, o IPP é sintetizado a partir do ácido mevalônico, podendo, em alguns tecidos, penetrar nos plastídeos e também servir como precursor para a síntese de carotenóides e ABA. O IPP é então convertido a farnesil pirofosfato (FPP, C_{15}), e este a geranylgeranyl pirofosfato (GGPP), composto de 20 carbonos. A conversão do GGPP em fitoeno (C_{40}) é catalisada pela enzima sintase do fitoeno (PSY), representando a primeira etapa limitante da síntese dos carotenóides. 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 (Fig. 11.3).

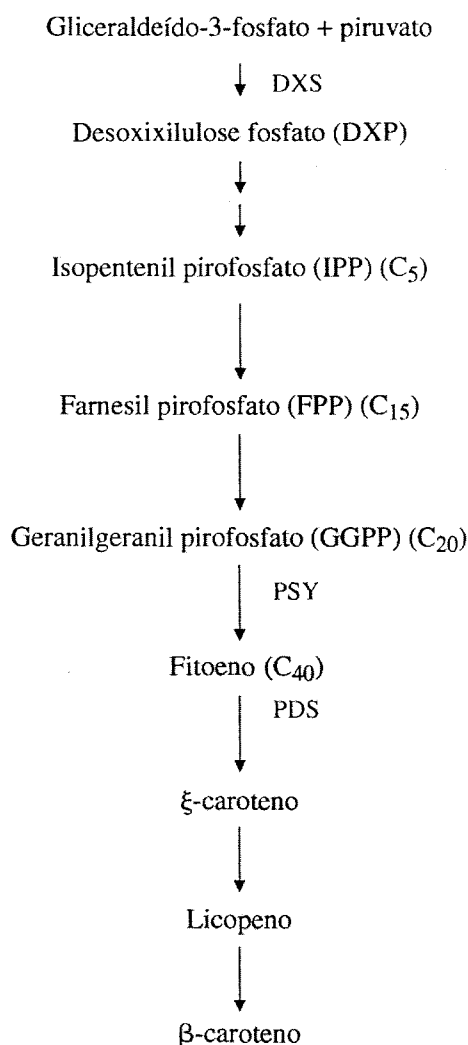


Fig. 11.3 Biossíntese dos carotenóides não-oxigenados, independente do ácido mevalônico, destacando a participação das enzimas sintase da 1-desoxi-D-xilulose fosfato (DXS), sintase do fitoeno (PSY) e dessaturase do fitoeno (PDS).

Essas reações formam o cromóforo dos carotenóides e, portanto, transformam o fitoeno incolor em licopeno, que apresenta coloração rosa.

Vários genes e enzimas envolvidos na síntese dos carotenóides têm sido identificados, contribuindo para a elucidação da biossíntese do ácido abscísico.

Síntese e clivagem dos carotenóides oxigenados nos plastídeos

Nos plastídeos, o β -caroteno será o precursor da zeaxantina, e, a partir desta, inicia-se a síntese e clivagem das demais xantofilas (Fig. 11.4).

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, com a mesma configuração *cis* nos carbonos 2 e 3 do ABA. A *trans*-violaxantina também pode formar a 9'-*cis*-violaxantina, e esta originar a 9'-*cis*-neoxantina (Fig. 11.4). As enzimas envolvidas nessas conversões não foram ainda identificadas. A clivagem oxidativa da 9'-*cis*-neoxantina e/ou 9'-*cis*-violaxantina, catalisada pela dioxigenase do 9'-*cis*-epoxicarotenóide (NCEC), forma a xantoxina (Xan), um epóxido de 15 carbonos semelhante ao ABA, além de um subproduto de 25 carbonos (Fig. 11.4). Os mutantes *vp14* de milho e *not* de tomate são deficientes em ABA, pois não realizam a clivagem oxidativa necessária para formação do primeiro composto de 15 carbonos, a xantoxina.

Síntese do ABA no citossol

As últimas etapas da síntese do ABA, a partir da xantoxina, ocorrem no citossol, através de três rotas possíveis: 1) a xantoxina é convertida em ABA-aldeído (ABAld), e este em ABA, representando, possivelmente, a via mais importante nas plantas; 2) a xantoxina é convertida em ABA-aldeído, e este em ABA-álcool e, posteriormente, em ABA; e 3) a xantoxina é convertida em ácido xantóxico e este em ABA (Fig. 11.5).

Na conversão da xantoxina em ABA-aldeído, através das vias (1) e (2) referidas no parágrafo anterior, ocorrem três modificações na molécula: (1) oxidação do grupo hidroxílico na posição 4', formando um grupo cetona; (2) dessaturação da ligação 2'-3'; e (3) abertura do anel epóxido. Possivelmente, essa conversão é catalisada por uma enzima desidrogenase/reductase de cadeia curta (SDR) dependente de NADP⁺ ou NAD⁺. Por último, ocorre a oxidação do ABA-aldeído, por incorporação do oxigênio da água, originando o ácido abscísico. Essa reação é catalisada

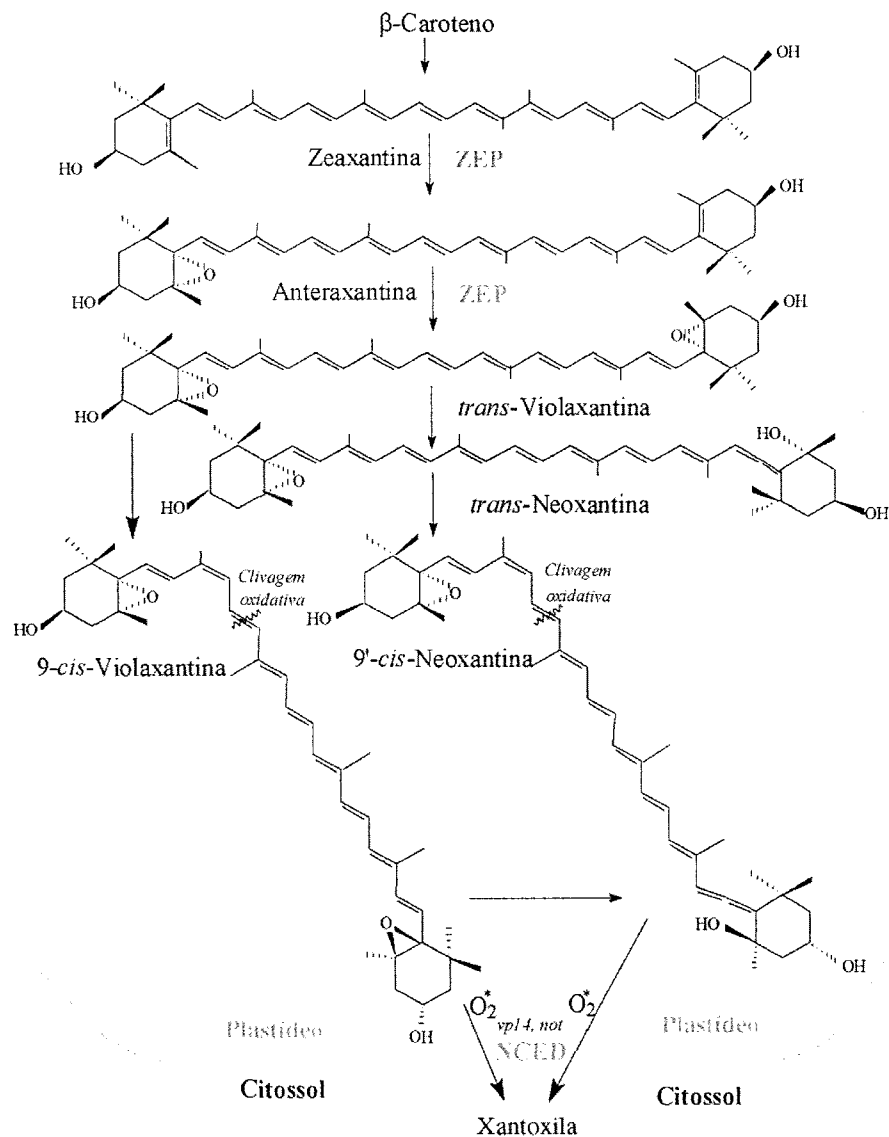


Fig. 11.4 Síntese dos carotenóides oxigenados (xantofilas) nos plastídeos, a partir da formação da zeaxantina e subsequente clivagem oxidativa da 9-cis-violaxantina e/ou 9'-cis-neoxantina. A epoxidase da zeaxantina (ZEP) catalisa as duas reações de epoxidação para formação da trans-violaxantina. A clivagem oxidativa e a incorporação de oxigênio (O₂*) resultam na formação da xantoxina e de um subproduto com 25 carbonos. Essa reação é catalisada pela dioxigenase do 9-cis-epoxicarotenóide (NCED). Os mutantes *vp14* e *not* não realizam essa clivagem oxidativa.

pela enzima oxidase do ABA-aldeído (AO) que exige um co-fator de molibdênio (Fig. 11.5).

A via de conversão da xantoxina em ABA intermediada pela formação de ABA-álcool aparentemente tem pouca importância nas plantas. Porém, essa via tem significado fisiológico em vários mutantes deficientes em ABA, dentre estes *flc* e *sit* de tomate, *aba3* de *Arabidopsis*, *abal* de *Nicotiana*, *droopy* de batata e *nar2a* de cevada (Fig. 11.5). Nesses mu-

tantes, a síntese de ABA a partir do ABA-aldeído é bloqueada devido à inatividade da AO, possivelmente por deficiência na síntese do co-fator.

As enzimas que catalisam a terceira via de formação do ABA não estão completamente estabelecidas. Aparentemente, a conversão da xantoxina em ácido xantóxico é através da enzima AO, enquanto a SDR catalisaria a reação final de formação do hormônio (Fig. 11.5).

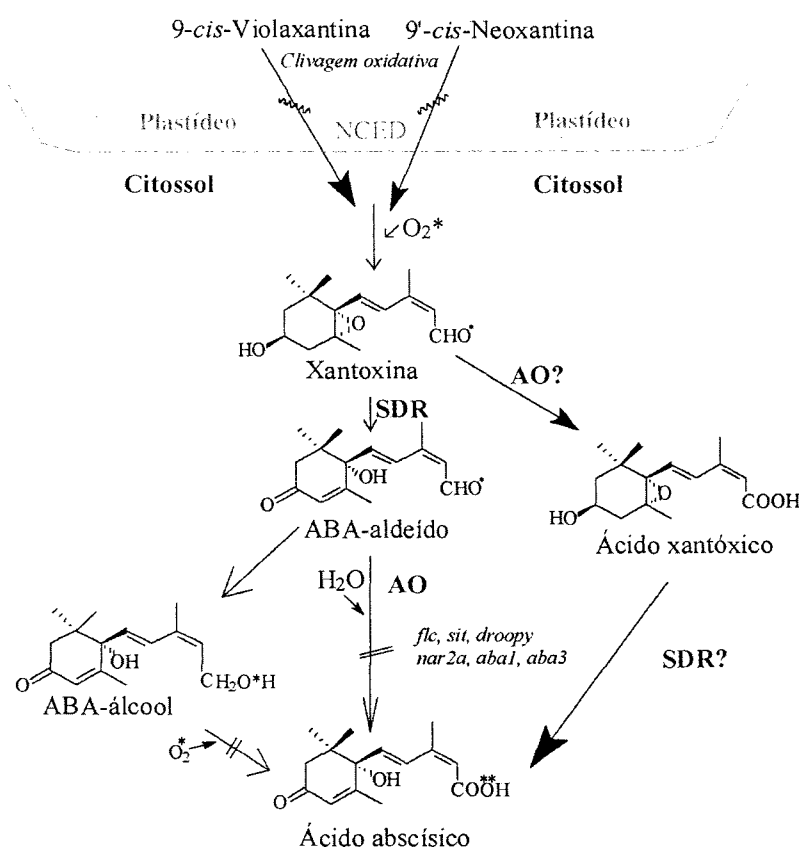


Fig. 11.5 Biossíntese do ácido abscísico (ABA) no citossol. A xantoxina é formada a partir da clivagem oxidativa da 9'-cis-violaxantina e/ou 9'-cis-neoxantina com incorporação de oxigênio. A formação do ABA-aldeído a partir da xantoxina é catalisada por uma desidrogenase/reductase de cadeia curta (SDR). O ABA-aldeído forma o ABA com a participação de H_2O . A reação é catalisada pela oxidase do ABA-aldeído (AO). Os mutantes em que essa reação não ocorre são *flc*, *sit*, *droopy*, *nar2a*, *aba1*, *aba3*. O ABA também pode ser formado a partir do ABA-álcool e do ácido xantóxico.

Os carotenóides necessários à biossíntese do ABA estão presentes nos cloroplastos localizados principalmente nas folhas, assim como nos cromoplastos, leucoplastos e proplastídeos distribuídos nos frutos, embriões de sementes, raízes e outros órgãos da planta. Nas folhas e raízes, a pressão de turgescência é o sinal regulador do metabolismo do ABA, enquanto, nas sementes, sua biossíntese está sob controle de outros processos do desenvolvimento.

Inativação

As plantas apresentam uma capacidade elevada de metabolizar o ABA. A inativação da molécula pode ocorrer tanto por conjugação quanto por degradação a outros compostos.

A conjugação mais comum, também presente na auxina e giberelina, ocorre pela ligação de uma molécula de glicose ao grupo carboxílico (C1), formando o éster glicólico do ABA (ABA-GE), mostrado na Fig. 11.1. Esse conjugado, isolado pela primeira vez em frutos de *Lupinus luteu*, tem pouca ou nenhuma atividade biológica, não sendo considerado como reserva ou estoque para formação de ABA. Em alguns tecidos, a conjugação parece ser o principal caminho para a inativação do ABA.

A inativação catabólica do ABA ocorre via hidroxilação na posição 8', formando um intermediário instável, o 8'-hidroxi-ABA. Esse composto origina o primeiro catabólito estável do hormônio, o ácido faseico (PA), que, quando oxidado, forma o ácido diidrofaseico (DPA). Esses dois ácidos foram identificados em um grande número de espécies e representam os principais

produtos do metabolismo do ABA. As estruturas dessas moléculas estão apresentadas na Fig. 11.1.

Outros metabólitos, dentre os quais o (+)-7'-hidroxi-ABA, o *trans*-ABA, e o *cis* e o *trans*-1',4'-diol do ABA, também foram identificados nos tecidos vegetais. Os metabólitos 8'-hidroxi-ABA, (-)-PA e (+)-7'-hidroxi-ABA exercem atividade semelhante à do ABA em alguns bioensaios.

Tanto o metabolismo quanto os metabólitos do ABA foram identificados em, praticamente, todos os órgãos das plantas, isto é, folhas, caules, raízes, sementes e frutos. Entretanto, como esses compostos foram também observados no xilema e no floema, sua presença não indica necessariamente a síntese em determinado órgão.

Nas folhas, a degradação do ABA ocorre mais rapidamente no escuro do que sob luz, quando, possivelmente, a forma aniônica do hormônio ABA^- encontra-se aprisionada no cloroplasto e protegida da ação de enzimas presentes no citossol. As folhas jovens apresentam níveis de ABA mais elevados, porém menor capacidade de sintetizar e catabolizar o hormônio, quando comparadas às folhas adultas. Assume-se que a maior parte do ABA presente nas folhas jovens seria importada das folhas adultas através do floema. Condições de estresse hídrico reduzem o catabolismo do ABA nas folhas.

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* 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.

MECANISMO DE AÇÃO DO ABA

O ácido abscísico, como os outros hormônios vegetais, exerce vários efeitos fisiológicos, possivelmen-

te 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 rápidas que envolvem fluxo de íons e alterações no balanço hídrico, ocorrendo após alguns minutos do aumento no conteúdo endógeno de ABA, como, por exemplo, o fechamento estomático; e (2) respostas lentas que envolvem alteração na expressão gênica, demorando algumas horas para se manifestarem (Fig. 11.6).

Transdução de sinais

A exemplo do que ocorre nos animais, muitas pesquisas têm sido direcionadas para a elaboração de um modelo sobre os mecanismos hormonais nas plantas.

Porém, até recentemente, a transdução de sinais nas plantas era pouco conhecida. Mas, nos últimos 15 anos, foram identificados alguns metabólitos e íons que atuariam como mensageiro secundário, dentre estes o cálcio (Ca^{2+}), o inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3)

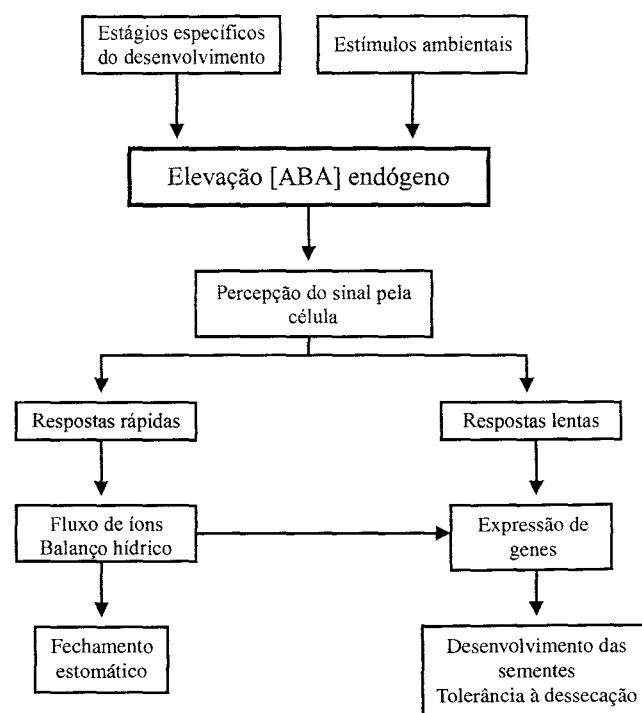


Fig. 11.6 Representação esquemática do mecanismo de ação e dos efeitos fisiológicos do ácido abscísico nas plantas.

e a adenosina difosfato ribose cíclica (cADPR), de maneira semelhante às células animais.

Um dos processos mais estudados é a ação do ácido abscísico nas células-guardas. O mecanismo de abertura e fechamento estomático é dependente de alterações na turgescência dessas células, responsáveis pelo grau de abertura do poro ou ostíolo. A turgescência, por sua vez, é regulada através do fluxo de íons, especialmente de potássio (K^+), que é balanceado por troca com cloro (Cl^-) e/ou malato através da membrana plasmática e do tonoplasto.

O fechamento estomático é resultante de um efluxo de K^+ das células-guardas, e não simplesmente de um bloqueio no influxo desse cátion, envolvendo, portanto, a ativação de canais específicos de íons na membrana plasmática. O ABA exerceria seu efeito regulador através do Ca^{2+} presente no citossol, o qual atua como mensageiro secundário na transdução do sinal, resultando no fechamento estomático.

O mecanismo de fechamento estomático, induzido por ABA, está esquematizado na Fig. 11.7. A li-

gação do ABA ao receptor ou a uma proteína de transporte ou, ainda, a interação do hormônio com os lipídios da membrana plasmática promovem a ativação de canais de efluxo de K^+ . O ABA também promove aumento na concentração de Ca^{2+} no citossol, através do influxo extracelular e/ou pela liberação do estoque intracelular, provavelmente do vacúolo. Neste último caso, o aumento de Ca^{2+} está ligado ao metabolismo do IP_3 e/ou cADPR, identificada como molécula sinalizadora em plantas submetidas a estresse hídrico. A elevação na concentração de Ca^{2+} ativa canais de efluxo de K^+ e bloqueia os canais de influxo desse cátion, inibindo a abertura estomática. O cálcio também causa uma pré-despolarização da membrana plasmática, permitindo a liberação de ânions e cátions do vacúolo. Com a ativação dos canais de efluxo de ânions na membrana plasmática, ocorre sua despolarização e a ativação dos canais de efluxo de K^+ . A perda final de K^+ provoca a saída de água da célula-guarda, reduzindo sua turgescência e mantendo fechado o estômato.

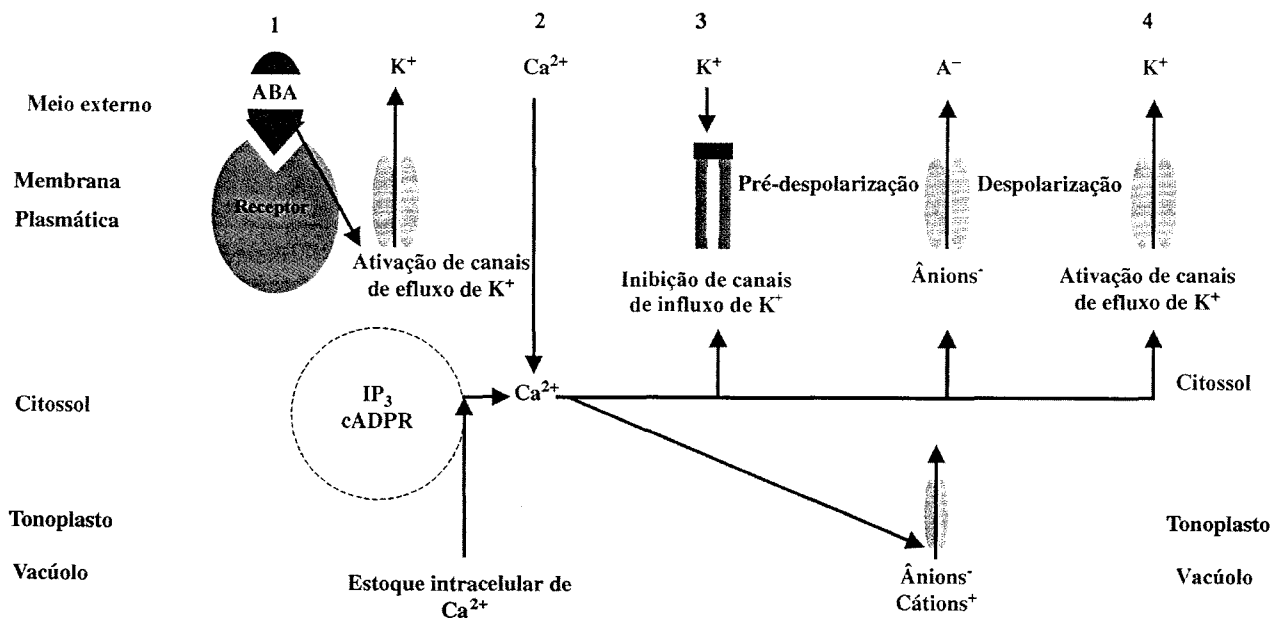


Fig. 11.7 Representação esquemática do modo de ação do ácido abscísico em células-guardas, evidenciando o envolvimento do Ca^{2+} , do inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) e da adenosina difosfato ribose cíclica (cADPR) como mensageiros secundários. (1) O ABA se liga ao receptor e ativa canais de efluxo de K^+ ; (2) a ligação ABA-receptor estimula o aumento de Ca^{2+} no citossol através do influxo ou da liberação desse cátion do estoque intracelular, com a participação do IP_3 e cADPR; (3) o aumento na concentração de Ca^{2+} no citossol ativa canais de efluxo de K^+ e bloqueia aqueles de influxo, ocorrendo pré-despolarização da membrana; (4) o Ca^{2+} promove despolarização da membrana, ocorrendo a liberação de ânions e cátions do vacúolo e a manutenção da atividade dos canais de efluxo de K^+ . (Modificado de Mansfield & McAinsh, 1995.)

A utilização de agentes quelantes e bloqueadores de canais de cálcio indica que tanto o cálcio externo quanto aquele liberado do estoque intracelular são importantes nesse mecanismo de fechamento estomático mediado pelo ABA.

Expressão gênica

Sob condições de estresse, especialmente hídrico, a diminuição do teor de água na célula resulta em alterações no metabolismo e em alguns processos reguladores através da expressão de genes específicos. Muitos desses genes, associados à proteção e manutenção do funcionamento celular, são expressos somente quando os teores de ABA são elevados — ABA-exigentes. Entretanto, vários genes induzidos por déficit hídrico são indiferentes ao tratamento com ABA exógeno — ABA-insensíveis —, indicando a existência de, pelo menos, dois caminhos de expressão gênica em resposta ao estresse hídrico: um dependente e outro independente do ABA.

A resposta do gene ao sinal celular é determinada pela seqüência de nucleotídeos presentes no DNA. 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 ABA *Response Elements*, foram identificados pela primeira vez em genes *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, em plantas de várias espécies, incluindo a "planta ressurgente" *Craterostigma plantagineum*.

Embora várias moléculas sinalizadoras na via de transdução de sinais do ABA tenham sido identificadas, o mecanismo de indução de genes específicos ainda não é bem compreendido, sendo possivelmente intermediado por processos de fosforilação e desfosforilação.

Revisões recentes e detalhadas sobre o mecanismo de transdução de sinais nas plantas e sobre o envolvimento do ABA no controle genético do desenvolvimento de sementes e das respostas a estresses po-

dem ser encontradas em Bray (1991); Ingram & Bartels (1996); Leung & Giraudat (1998); Campalans *et al.* (1999).

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, atuando em conjunto e de forma integrada em processos bastante complexos, para acelerar, reduzir ou para 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.

A combinação de procedimentos experimentais, tais como a aplicação de ABA exógeno; a correlação entre os estágios fisiológicos de desenvolvimento e os níveis endógenos de ABA (dosados através de técnicas de GC-MS e imunoenaios específicos); a redução ou remoção do ABA endógeno através de inibidores de síntese de carotenóides e de procedimentos genéticos utilizando mutantes e clonagem de genes, tem permitido uma melhor compreensão dos efeitos exercidos por esse hormônio.

Apesar de o ABA ter sido inicialmente identificado como um promotor da abscisão, seu efeito é indireto, através do aumento na síntese de etileno, o hormônio de fato responsável por esse processo. A participação do ácido abscísico no controle do mecanismo estomático em plantas submetidas a estresse hídrico, e no desenvolvimento da semente, está relativamente bem estabelecida (ver Mecanismo de ação do ABA). O ABA também exerce efeitos no crescimento, na dormência e na proteção contra injúrias.

Proteção ao estresse hídrico

Wright & Hiron, em 1969, verificaram o aumento no nível endógeno de ácido abscísico em folhas de

trigo destacadas e submetidas a déficit hídrico. Observações posteriores, conduzidas por vários grupos de pesquisadores, indicam que um grande número de respostas fisiológicas ao estresse podem ser simuladas pela adição de ABA, destacando-se a redução da condutância estomática e da perda de água pelas folhas.

No início da década de 80, 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.

Existe, de fato, um mecanismo de comunicação entre a raiz e a parte aérea, especialmente quando algum tipo de estresse é imposto ao sistema radicular.

O sinal positivo da raiz para a parte aérea envolve a promoção da síntese e/ou do fornecimento de substâncias fisiologicamente ativas, as quais, em condições normais, não são sintetizadas, ou quando sintetizadas em pequena quantidade. O sinal negativo, por sua vez, é a 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.

Estudos liderados por W.J. Davies, na Inglaterra, evidenciaram a participação do ácido abscísico como um sinal positivo, transportado da raiz para a parte aérea através do xilema, em plantas submetidas a estresse hídrico. A concentração de ABA detectada no sistema radicular de plantas de milho cultivadas em solo seco foi substancialmente maior do que aquela verificada em raízes mantidas em solo úmido. As raízes localizadas nas camadas superficiais do solo seriam as responsáveis pela percepção do déficit hídrico, o que estimula a síntese de ABA nesses órgãos. O transporte do ABA para a parte aérea ocorre através da corrente transpiratória do xilema, provocando o fechamento estomático e reduzindo a perda de água. Enquanto isso, as raízes mais profundas e em contato com regiões ainda úmidas do solo mantêm a absorção de água mantendo 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 a 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 (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

Os efeitos do ABA na proteção ao estresse hídrico são exercidos 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 potente 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. O conteúdo endógeno de ABA aumenta durante esses períodos, atingindo um pico máximo variável entre as espécies.

O acúmulo de substâncias de reserva associado à expressão de grupos específicos de mRNAs para a transcrição e o armazenamento de proteínas é considerado como um componente importante no pro-

cesso de aquisição de tolerância à dessecação, induzido por ABA.

Durante a embriogênese, o aumento no teor endógeno de ABA está positivamente relacionado à expressão dos genes (*lea*), que codificam as proteínas LEA, identificadas pela primeira vez em embriões de algodão. Embora evidências bioquímicas das funções das proteínas LEA ainda não foram encontradas, possivelmente elas protegem, no nível subcelular, as proteínas e as membranas contra a desidratação.

Embriões cultivados em meios de cultura desprovidos de ABA têm a síntese de proteínas diminuída, enquanto a adição do hormônio restaura a síntese protéica.

Outro efeito do ABA durante a embriogênese é evitar a viviparidade, ou seja, a germinação precoce do embrião em frutos ainda conectados à planta-mãe. Enquanto embriões isolados e cultivados em meio de cultura são capazes de germinar, em presença de ABA esse processo não é observado. Evidências diretas da participação do ABA endógeno na supressão da germinação precoce foram obtidas através de mutantes de milho deficientes (*vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp14*) ou insensíveis (*vp1*) a esse hormônio, e após tratamento dos grãos selvagens com fluridona. Também em *Arabidopsis*, o ABA inibe a germinação, mas 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. Efeitos semelhantes foram observados em sementes de *Brachiaria brizantha*, gramínea utilizada em pastagem.

À medida que a semente atinge a maturação, o embrião torna-se quiescente ou dormente. 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.

A ação do ABA nas sementes e em outras partes da planta induzidas à dormência ocorre através da regulação da expressão gênica (ver Cap. 17, Germinação).

Revisões recentes das bases genéticas desses mecanismos estão detalhadas em Black (1991), Bewley & Black (1994), Rock & Quatrano (1995) e Leung & Giraudat (1998).

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 não está bem elucidada quanto à promoção desse processo pelo etileno ou sua inibição pela citocinina. Enquanto alguns resultados indicam um efeito promotor do ABA na senescência, outros não apresentam correlação 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 do 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 mRNA 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 gibberelina, 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. 11.8), 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 agrião e do embrião isolado de trigo, 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.

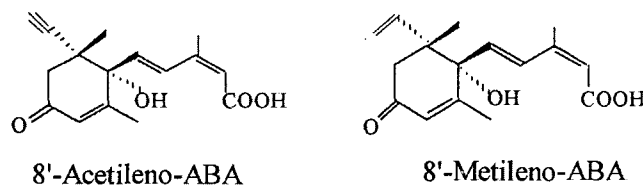


Fig. 11.8 Estrutura química do 8'-acetileno-ABA e 8'-metileno-ABA, análogo do ácido abscísico.

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.
- 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.
- Li Y, Walton DC. Violaxanthin is an abscisic acid precursor in water-stressed dark-growth bean leaves. *Plant Physiol*, 1990; 92:551-559.
- Mansfield TA, McAinsh MR. Hormones as regulators of water balance. In: Davies PJ (ed). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1995, pp 598-616.
- 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. [+]-Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature*, 1969; 224:719-720.
- Zeevaert JAD, Rock CD, Fantauzzo F, Heath TG, Gage DA. Metabolism of ABA and its physiological implication. In: Davies WJ, Jones HG (eds). *Abscisic Acid Physiology and Biochemistry*. Environmental Plant Biology Series. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, 1991, pp 39-52.

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.
- Liotenberg 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.



Sandra Colli

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 a 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 sycomurus*) para estimular seu 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 provocava a floração em plantas de abacaxi cultivadas em casa de vegetação. Após 40 anos, os produtores dessa fruta em Porto Rico passaram a induzir a floração, expondo as plantas à fumaça durante 12 horas.

No século XIX, o gás de iluminação era uma importante fonte de luz. Fahnestock (1858) observou que esse gás havia danificado 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 de Dimitry Nikolayevich Neljubow, um jovem estudante russo do Instituto de Botânica da Universidade de São Petesburgo. Em 1901, Neljubow verificou que a aplicação de $0,06 \mu l l^{-1}$ de etileno em plantas de ervilha crescidas no escuro produzia 3 respostas no caule: inibição do alongamento, aumento radial (intumescimento) e uma orientação horizontal desse órgão (Fig. 12.1), 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 amadurecimento prematuro nas 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 *Penicillum*, o que acarreta amarelecimento e 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 produzido em maçãs maduras provocava epinastia foliar em plântulas de tomate e alterações no desenvolvimen-



Sandra Colli

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 a 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 sycomurus*) para estimular seu 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 provocava a floração em plantas de abacaxi cultivadas em casa de vegetação. Após 40 anos, os produtores dessa fruta em Porto Rico passaram a induzir a floração, expondo as plantas à fumaça durante 12 horas.

No século XIX, o gás de iluminação era uma importante fonte de luz. Fahnestock (1858) observou que esse gás havia danificado 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 de Dimitry Nikolayevich Neljubow, um jovem estudante russo do Instituto de Botânica da Universidade de São Petesburgo. Em 1901, Neljubow verificou que a aplicação de $0,06 \mu l l^{-1}$ de etileno em plantas de ervilha crescidas no escuro produzia 3 respostas no caule: inibição do alongamento, aumento radial (intumescimento) e uma orientação horizontal desse órgão (Fig. 12.1), 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 amadurecimento prematuro nas 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 acarreta amarelecimento e 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 produzido em maçãs maduras provocava epinastia foliar em plântulas de tomate e alterações no desenvolvimen-

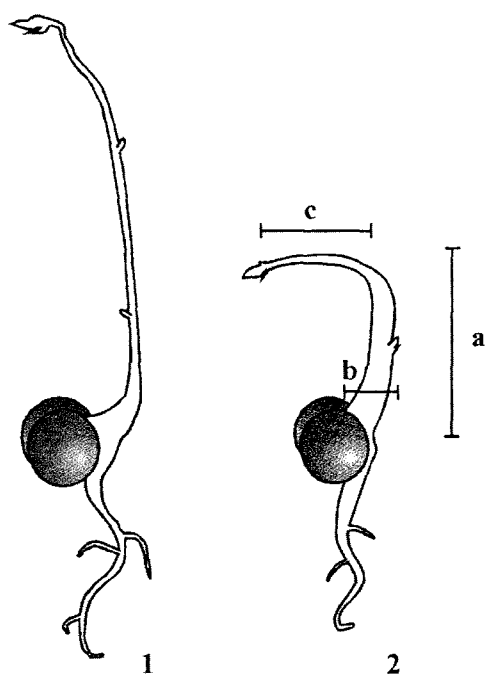


Fig. 12.1 Representação esquemática de plântulas estioladas de ervilha. (1) Plântula em água; (2) plântula tratada com etileno, apresentando no epicótilo: a) inibição do alongamento; b) aumento de expansão radial; c) orientação horizontal de crescimento.

to do caule de ervilhas estioladas. 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 30 até o final dos anos 50, ocorreu uma diminuição do interesse dos fisiologistas vegetais 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 cientistas 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 ambiente rural não-poluído é encontrado na atmosfera em concentrações de 0,001 a 0,005 μl^{-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 μl^{-1}), Alemanha (0,2 μl^{-1}), Índia (0,1 μl^{-1}) e Nova York (0,03 μl^{-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, musgos até as plantas vasculares, como samambaias, gimnospermas e angiospermas.

Apesar de as bactérias produzirem etileno, pouco é conhecido sobre o papel desse 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 microorganismos. *Pseudomonas solanacearum*, por exemplo, é responsável pela produção de etileno que causa o amadurecimento prematuro de bananas.

Uma grande quantidade de fungos, dentre os quais *Penicillium digitatum*, *P. cyclopium*, *P. velutinum*, *Mucor hiemalis*, *Agaricus bisporus*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus clavatus* e *A. flavus*, produzem etileno, porém 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 phelegmaria* 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 produção desse gás 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 subdivididos em climatéricos (com produção de teores elevados de etileno), como a maçã, banana, tomate, abacate e manga, e os não-climatéricos (com produção de baixos teores de etileno) como a laranja, limão e uva. 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 2 carbonos com 1 dupla ligação e 4 hidrogênios, peso molecular de 28,05, densidade relativa no ar de 0,978, inflamável, incolor, com odor adocicado similar ao éter (Fig. 12.2).

Algumas substâncias com atividade biológica similar à do etileno, como o propileno e o acetileno, são consideradas análogas a esse gás, sendo moléculas

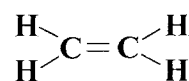


Fig. 12.2 Fórmula química do etileno.

preferencialmente pequenas e com duplas ligações (cadeias longas de carbono contendo ligações triplas têm menor atividade biológica).

Enquanto, para as plantas vasculares, a biossíntese de etileno pode ser considerada razoavelmente estabelecida, esta ainda é desconhecida nos organismos não-vasculares. A via biossintética do etileno foi 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. 12.3). A metionina é convertida a AdoMet pela enzima sintetase do AdoMet. A conversão do AdoMet a ACC e MTA, catalisada pela sintase do ACC, 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 oxidase do ACC ou a N-malonil ACC (MACC) por ação da transferase do malonil. 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 nucleosidase da MTA, é convertida a 5'-metiltiorribose (MTR), e esta a 5'-metiltiorribose-1-fosfato (MTR-1-P), pela ação da cinase da MTR. 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.

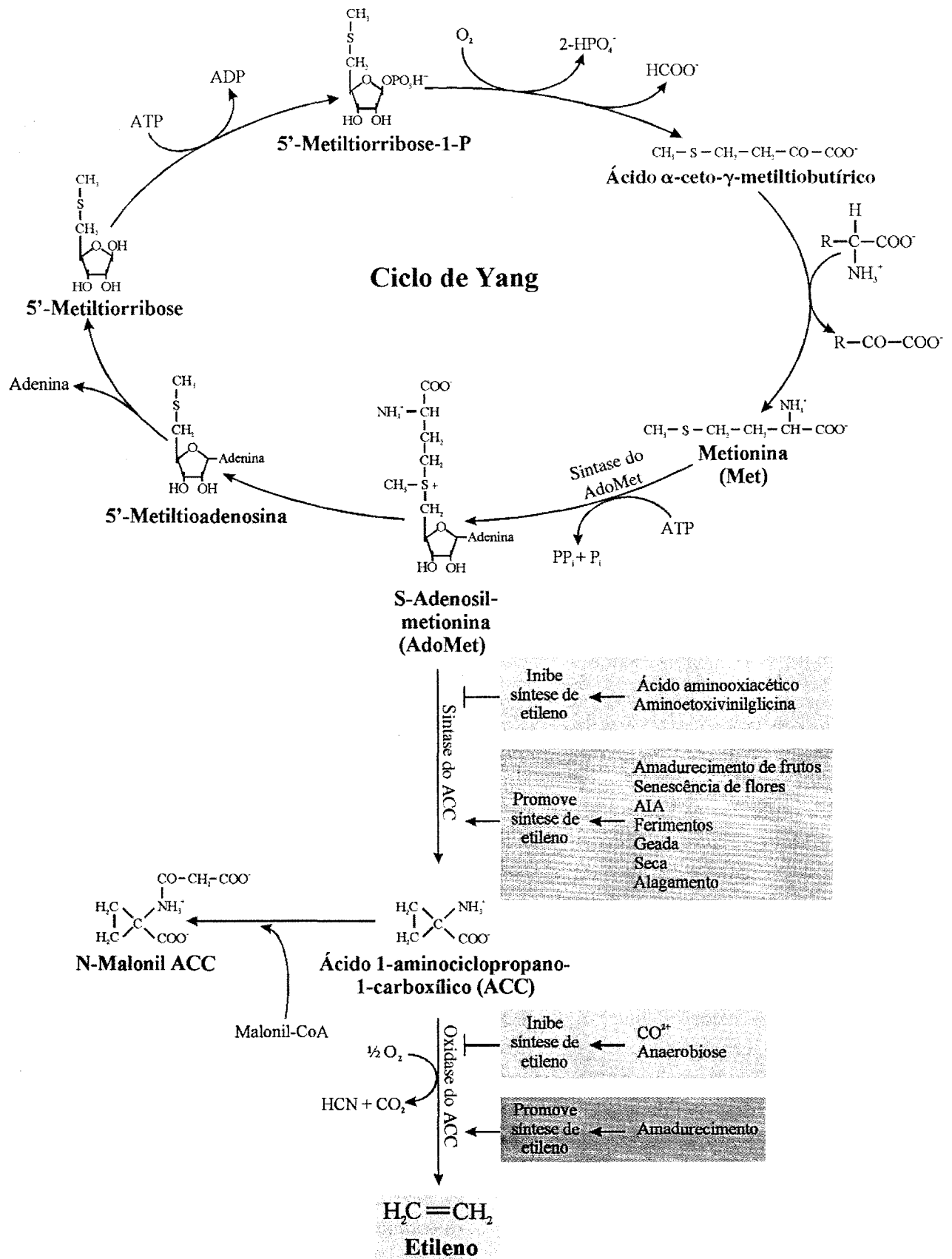


Fig. 12.3 Via de biossíntese do etileno e ciclo de Yang. O aminoácido metionina é o precursor do etileno. A reação catalisada pela sintase do ACC, que converte AdoMet a ACC, é uma reação limitante da via de biossíntese do etileno. O grupo CH₃-S da metionina é reciclado através do ciclo de Yang. O ACC pode ser conjugado formando o N-malonil ACC ou ser convertido em etileno. As substâncias AOA (ácido aminooxiacético) e AVG (aminoetoxivinilglicina) são inibidores da síntese do etileno. (Modificado de Yang 1981 e Yung *et al.* 1982.)

Estudar a biossíntese do etileno com as principais enzimas envolvidas nesse processo é importante para compreender a regulação desse hormônio.

A sintase do ACC, 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 sintase do ACC permanece parcialmente purificada. A atividade dessa enzima é dependente de piridoxal 5-fosfato, e inibidores dessa substância, como o AVG (aminoetoxivinilglicina) e o AOA (ácido aminooxiacético) bloqueiam a conversão de AdoMet a ACC.

Vários laboratórios têm clonado genes da sintase do ACC de várias plantas, como o arroz, soja e tabaco, e de frutos de tomates e maçãs. A seqüência de aminoácidos mostra alto 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 9 genes para a sintase do ACC, expressos de maneira distinta nos tecidos, dependendo do desenvolvimento das plantas ou em resposta aos fatores ambientais.

A atividade da sintase do ACC 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 sintase do ACC.

A conversão de ACC a etileno é produzida por uma enzima oxidativa, mais recentemente conheci-

da como oxidase do ACC e 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 oxidase do ACC 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.

A oxidase do ACC 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 CO₂ para a sua atividade, sendo a conversão de ACC em etileno inibida por benzoato de sódio, altas temperaturas, baixa oxigenação e íons cobalto (Co²⁺).

As aplicações de algumas substâncias têm auxiliado nos estudos do etileno em diferentes processos biológicos nas plantas. A prata, por exemplo, mostrou-se um potente e específico inibidor da ação do etileno, podendo ser usada na forma de nitrato ou tiosulfato. Outras substâncias, tais como o 2,5-norbornadieno (NBD) e o diazociclopentadieno (DACP), também apresentam esse efeito inibitório.

Participando de vários processos fisiológicos do desenvolvimento vegetal, o etileno exerce vários efeitos comercialmente interessantes na agricultura. Entretanto, como esse é um hormônio gasoso, sua aplicação é difícil de ser realizada a campo, 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 menor do que 4; todavia, quando misturada em água e absorvida pela planta, libera etileno em pH fisiológico (Fig. 12.4).

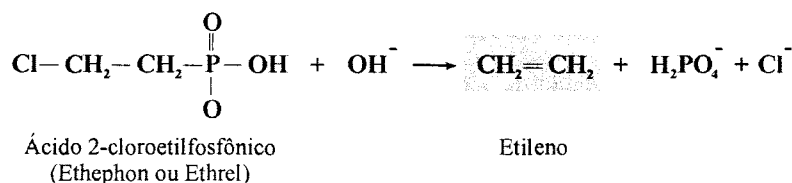


Fig. 12.4 Reação de liberação do etileno a partir do Ethrel.

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. 16, Floração).

Aplicação de fitorreguladores

AUXINA

É bem conhecido o fato de que a aplicação de AIA provoca uma elevação na produção de ACC e etileno, refletindo numa elevação do conteúdo de mRNA da sintase do ACC. Entretanto, apenas um limitado número de isoformas da sintase do ACC foi induzido por auxinas. A aplicação de auxinas sintéticas, como o ANA, 2,4-D e picloram (ambos herbicidas), também estimula a produção de etileno, enquanto o tratamento simultâneo com AVG (aminoetoxivinilglicina) bloqueia a produção desse gás. O aumento no teor de etileno após a aplicação de auxinas pode ser de 10 a 100 vezes, ocorrendo num intervalo de 30 minutos a 2 horas. Altas concentrações de auxinas promovem respostas rápidas na produção de etileno, enquanto a diminuição dos teores de AIA nos tecidos está associada ao retorno aos níveis normais da sintase do ACC.

CITOCININA

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 sintase do ACC 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.

GIBERELINA

Tratamentos com giberelinas têm apresentado efeitos relativamente pequenos e variáveis na produção de etileno. Apenas um leve incremento na produção de etileno foi verificado em feijão, sementes de amendoim e tubérculos de batata após a aplicação de giberelina. Entretanto, em plântulas de ervilha, calo de tabaco e segmentos de folhas de alface, a presença desse hormônio não influenciou os teores de etileno.

ÁCIDO ABCSÍCIO

Em algumas plantas, a aplicação do ácido abscísico (ABA) pode promover a produção de etileno, como observado em segmentos de folhas de alface, flores de *Ipomea nil* e em maçãs. Porém, o efeito do ABA pode ser considerado relativamente pequeno, provocando, em geral, um aumento de cerca de 2 vezes nos teores de etileno, possivelmente por meio da estimulação da atividade da oxidase do ACC, como verificado em maçãs e discos de folhas de espinafre. Um aumento no teor de MACC também foi observado em folhas de espinafre, sugerindo uma maior atividade da maloniltransferase do ACC.

Entretanto, contrariamente ao que foi visto aqui, em folhas de trigo submetidas à seca, a aplicação de ABA inibiu a produção de etileno, via redução da atividade da oxidase do ACC. Efeitos similares foram verificados em culturas de células em suspensão, sementes de amendoim, folhas de arroz e aveia e plântulas de ervilhas e soja.

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 sintase do ACC.

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 -5 e 30° C, declinando linearmente entre 30 e 40° C. Sob temperaturas elevadas a oxidase do ACC é inativada, possivelmente devido à sua localização nas membranas ou no apoplasto. Entretanto, a atividade da sintase do ACC não é prejudicada por temperaturas elevadas, ocorrendo acúmulo de ACC.

Temperaturas extremas, tanto baixas (geadas) quanto elevadas (40° C), podem gerar estresses, 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 geadas, 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, como 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, as gemas crescem horizontalmente, na presença de luz, e quase verticalmente quando no escuro, ocasião na qual a produção de etileno é cerca de 3 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 oxidase do ACC. Em frutos climatéricos como maçãs, bananas, peras, 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.

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 os frutos de pêssego e maçã foram transferidos para um ambiente enriquecido de CO₂ (40%), não se observou a produção de etileno, sendo a taxa respiratória reduzida à 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 oxidase do ACC.

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 altos nas plantas alagadas, provocando a redução do crescimento de folhas, caules e raízes, a epinastia (curvatura para baixo), senescência e abscisão foliar, aumento da espessura da base caulinar, formação de raízes adventícias e de aerênquima, bem como hipertrofia de lenticelas dos caules e raízes.

O precursor ACC é acumulado na raiz hipóxica e transportado através do xilema para a parte aérea mais oxigenada, onde é oxidado a etileno, acarretando uma 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 12.1).

Em plantas de arroz, 2 genes codificadores da sintase do ACC, 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 oxidase do ACC, 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, apre-

sentam teores mais elevados de etileno, o que não se observa em 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. 11, Ácido Abscísico).

SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

A produção de etileno pode ser estimulada por vários metais fitotóxicos, como o cádmio, cobre, ferro, lítio, prata e zinco; compostos inorgânicos, como a amônia, bissulfito, ozônio e salicilato; e orgânicos, como o ácido ascórbico; herbicidas como o endotal, paraplát e glifosato; desfolhantes, como o thidiazuron, cianeto de potássio; e pesticidas, como o 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 a produção desse gás 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 feridas 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 sintase do ACC e do etileno (Tabela 12.2).

TABELA 12.1

Efeitos do alagamento sobre os teores de ACC (nmol g^{-1}) na seiva do xilema e de etileno ($\text{nl g}^{-1} \text{h}^{-1}$) em pecíolos de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Plantas-controle (mantidas em solo drenado) e plantas alagadas durante 24, 48 e 72 horas (Modificado de Bradford e Yang, 1980)

Tempo (horas)	ACC (nmol g^{-1})		Etileno ($\text{nl g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	
	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

TABELA 12.2 Efeitos de ferimento na produção, durante 25 horas, da sintase do ACC (nmol g ⁻¹ h ⁻¹), ACC (nmol g ⁻¹) e etileno (nmol g ⁻¹ h ⁻¹) em discos de mesocarpo de <i>Cucurbita maxima</i> (Modificado de Hyodo <i>et al.</i> , 1989)			
Tempo (h)	Teores		
	(nmol g ⁻¹ h ⁻¹)	(nmol g ⁻¹)	(nmol g ⁻¹ h ⁻¹)
	Sintase do ACC	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

INFECCÃO 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.

TRANSPORTE DO ETILENO

O transporte do etileno, ao contrário dos demais hormônios vegetais, é independente de tecidos vasculares e de outras células. Esse gás etileno movimenta-se facilmente entre os tecidos, difundindo-se 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.

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.

Verificou-se, recentemente, um progresso substancial no entendimento da ação do etileno através do uso de mutantes de *Arabidopsis thaliana* representados por aqueles que falham em responder ao etileno exógeno – mutante resistente ao etileno e outros, cujas respostas ao hormônio ocorrem mesmo em sua ausência – mutante constitutivo.

Os receptores de etileno isolados em tabaco, feijão e tomates são proteínas de membrana. Após a ligação do etileno ao receptor, é iniciado o processo de transdução, representado por mudanças conformacionais nas moléculas receptoras que ativam um programa molecular específico, modificando a expressão gênica e a síntese de mRNA e proteínas necessárias para uma resposta característica.

No final da década de 80, foram isolados mutantes resistentes ao etileno (*etr1*) em *Arabidopsis*. O gene *etr1* codifica a proteína ETR1 encontrada nas membranas, a qual mostrou ser realmente um receptor de etileno e, portanto, envolvida na transdução de sinais referentes a esse hormônio. ETR1 age como um dímero com 2 proteínas transmembrana ligadas por pontes dissulfido, e a ligação do etileno a esse receptor requer a presença de cobre como um co-fator. Genes de *Arabidopsis* codificam outras 4 proteínas similares ao ETR1, que também atuam como receptores de etileno: ETR2, EIN4, ERS1 e ERS2. Recentemente, foi demonstrado que o ETR1 está localizado principalmente no retículo endoplasmático. Apesar da sua localização intracelular, por apresentar afinidade com lipídios, o etileno atravessa facilmente a membrana celular, ligando-se ao receptor intracelular.

A proteína codificada pelo gene *ctr1*, isolado de um mutante constitutivo para etileno, está envolvida no mecanismo de ação do etileno. A sequência de aminoácidos dessa proteína sugere similaridade com as cinases serina/treonina da família Raf, como as MAP cinases (MAPK – proteína cinase mitogênica ativada), encontradas desde leveduras até mamíferos.

As proteínas EIN2, EIN3 e ERF1 também estão envolvidas na transdução dos sinais desencadeados pelo etileno. A proteína EIN2 é encontrada em membranas, enquanto a proteína EIN3 é um membro da família de fatores de transcrição EIN3/EIL que são importantes componentes para mediar os efeitos do etileno na expressão gênica.

O modelo teórico mostrado na Fig. 12.5 representa o entendimento que se tem, atualmente, sobre o mecanismo de ação do etileno. Inicialmente, o etileno ligar-se-ia aos receptores ETR1, ETR2, EIN4, ERS1 e/ou ERS2 presentes na membrana endoplasmática, inativando a proteína CTR1, que, por sua vez, permitiria a ativação de EIN2 e, posteriormente, de EIN3. Esta última atuaria no núcleo regulando positivamente a expressão do gene *erf1*, promovendo a formação de um fator de transcrição, chamado ERF1, que se ligaria ao elemento de resposta do etileno (ERE). O etileno desencadeia a transcrição de mRNA de diversos genes, como, por exemplo, aqueles que

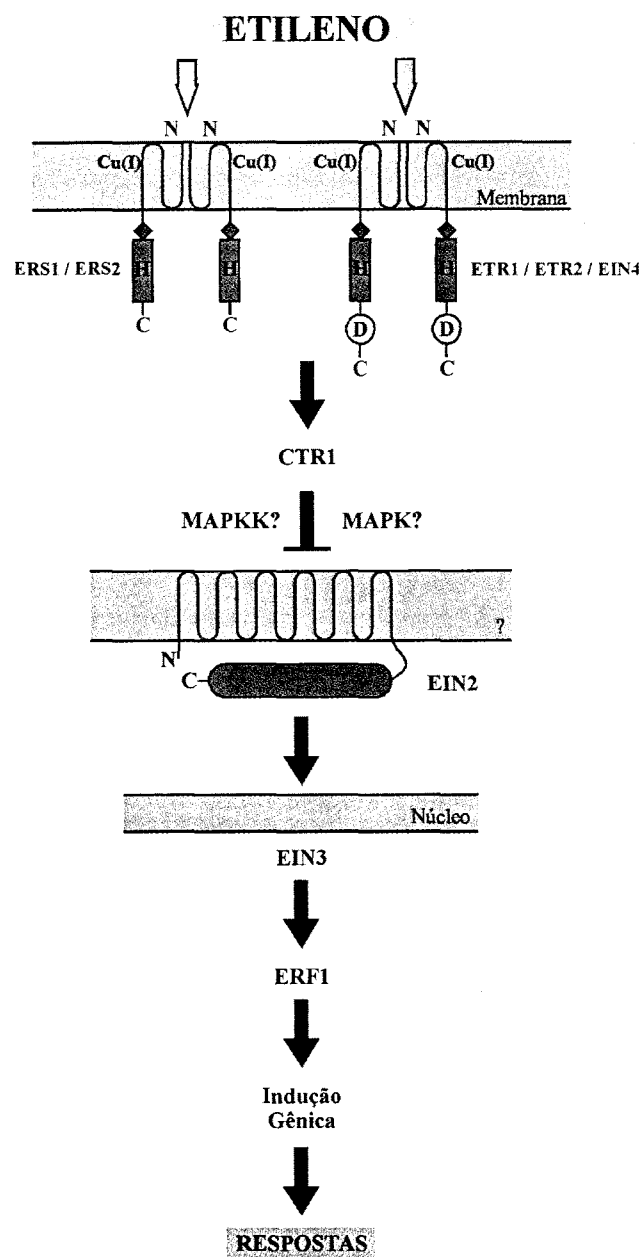


Fig. 12.5 Modelo hipotético de sinalização do etileno em *Arabidopsis*. O etileno se liga aos receptores ETR1 ou ERS1, que são proteínas da membrana do retículo endoplasmático. Os receptores de etileno ETR2 e EIN4, similares a ETR1, e ERS2, similar a ERS1, também podem estar na membrana. O etileno se liga ao receptor através do co-fator cobre, o que causa a inativação do CTR1, permitindo que EIN2 se torne ativado, o que promove a ativação de uma cascata de fatores de transcrição, incluindo o EIN3 e o ERF1, que causam a expressão de genes estimulados por etileno. (Modificado de Chang e Shockey, 1999; Urao *et al.*, 2000.)

codificam as enzimas celulase, β -1,3-glucanase, peroxidase, sintase da chalcona além de uma proteína relacionada à patogenicidade (PRP). Uma seqüência regulatória, chamada de elemento de resposta ao etileno (ERE), que apresenta uma seqüência repetida de GCCGCC, foi identificada em genes regulados pelo etileno.

Na ausência de etileno, essas respostas são reprimidas, possivelmente pela ativação direta do regulador negativo CTR1, que atuaria sobre uma cascata de fosforilações, impedindo a seqüência de proteínas EIN2, EIN3 e ERF1 de se tornar ativa.

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 da fase 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. 12.6).

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 20

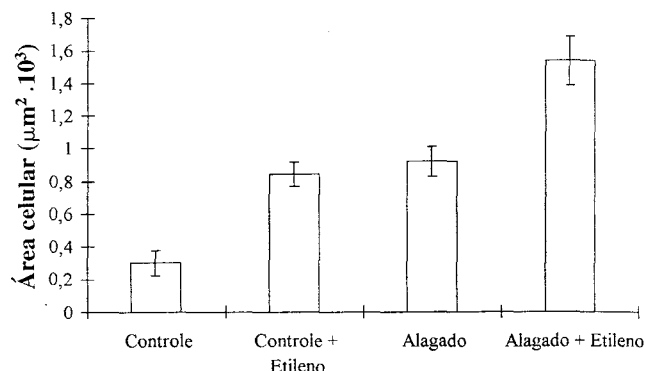


Fig. 12.6 Área média de células da base caulinar de plantas de *Pelthophorum dubium*. Controle – plantas drenadas; controle + etileno – plantas drenadas e tratadas com 240 mg l⁻¹ de Ethrel; alagado – plantas alagadas; alagado + etileno – plantas alagadas e tratadas com 240 mg l⁻¹ de Ethrel. Um aumento similar das áreas das células foi verificado tanto em plantas drenadas tratadas Ethrel quanto em plantas submetidas ao alagamento. As maiores áreas celulares são observadas em plantas alagadas tratadas com Ethrel. (Modificado de Medri *et al.*, 1998.)

em algumas espécies 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 4 vezes o teor de etileno verificado nas sementes dormentes, cujos tecidos acumulam ACC e apresentam baixas concentrações da oxidase do ACC. Em sementes de alface e de *Xanthium pensylvanicum*, 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 20, 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. 8, Auxinas, e 9, Citocininas). A brotação de bromeliáceas, cormos de gladiófolos e tubérculos de batatas pode ser estimulada, experi-

mentalmente, por etileno, estando associada, pelo menos no último caso, ao aumento da taxa respiratória e à mobilização de carboidratos.

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 conseqüência 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 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 *Regnellidium 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. 12.7).

Perturbações mecânicas no caule causadas pelo vento podem estimular a produção de etileno e alterar o crescimento e 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.

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

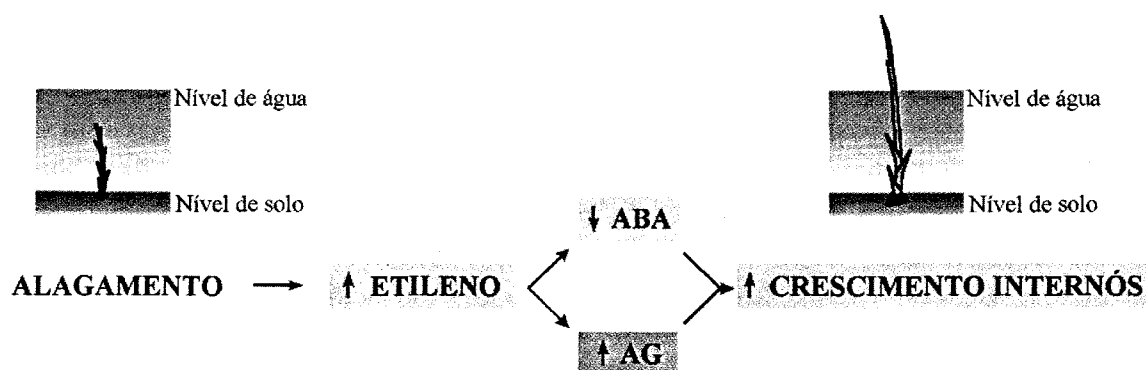


Fig. 12.7 Crescimento caulinar de plantas de arroz cultivadas sob alagamento. Nessa condição, as plantas apresentam teores elevados de etileno o que acarreta uma diminuição da concentração do hormônio inibidor do crescimento ácido abscísico (ABA) e um aumento no teor do hormônio promotor de crescimento ácido giberélico (AG), o que promove o crescimento do caule.

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. 19, Fotomorfogênese). 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 através da malonização do ACC.

EXPANSÃO E EPINASTIA DE FOLHAS

A expansão das folhas de plantas de batata, tabaco, girassol e Gramineae pode ser inibida pela aplicação de etileno, estando tal efeito na família citada associado 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, é considerada por alguns autores como um efeito direto do etileno, enquanto outros pesquisadores sugerem que haveria uma redistribuição e acúmulo de auxina, na parte superior do pecíolo, induzidos por esse gás.

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. 12.8). 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 sintase do ACC 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 oxidase do ACC, resultando num rápido estabelecimento da epinastia foliar.

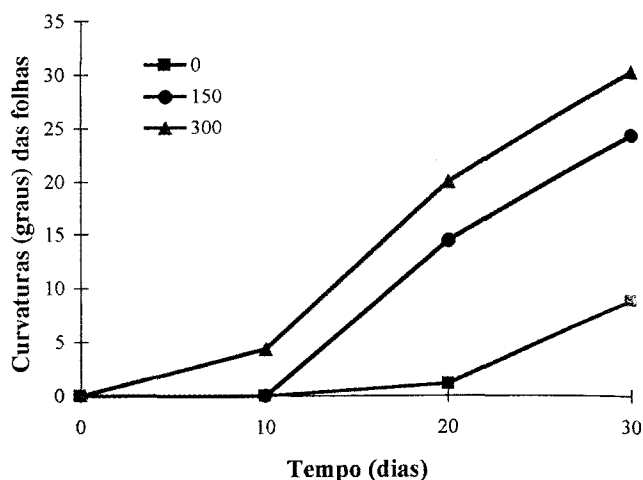


Fig. 12.8 Curvaturas (graus) das folhas de plantas de *Croton urucurana* provocada pelo tratamento com 150 e 300 mg l⁻¹ de Ethrel, durante 30 dias. (Colli, 1998.)

LENTICELAS HIPERTROFIADAS

O etileno está associado à hipertrofia de lenticelas caulinares, estas resultantes de um aumento de volume do tecido parenquimatoso encontrado 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 aumentava com o aumento da concentração dessa substância liberadora de etileno (Tabela 12.3). 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 (hipóxicas).

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 espécies 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 é dependente da

TABELA 12.3 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) (Modificado de Colli, 1998)

Ethrel (mg l ⁻¹)	Número de lenticelas
0	0 b
150	1,15 b
300	4,29 a

presença de pelo menos uma folha com grau mínimo de maturidade. Enquanto o tratamento de 6 horas com etileno mostrou-se suficiente para promover após 4 dias a indução floral em abacaxi, o tratamento com AVG em algumas espécies ornamentais de Bromeliaceae atrasou a formação de flores (ver Cap. 16, Floração).

A aplicação de etileno aumentou a formação de hastes florais em gladiolo, narciso e íris, cujos bulbos foram tratados com esse hormônio. Em *Narciso tazetta*, a aplicação desse gás aumentou a taxa de floração em 70% e reduziu em 20 dias o tempo de juvenilidade.

Tratamentos com etileno podem promover a feminilização na alga marinha *Dictyostelium 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 gás 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 de inibidores da síntese de etileno (AVG) e de sua ação (íon prata) (ver Cap. 10, 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 assim uma técnica bastante utilizada na produção comercial da borracha.

SENESCÊNCIA

A senescência ou envelhecimento nas plantas superiores, diferentemente do que geralmente se supõe, não deve ser visto como processo de deterioração, mas como parte integrante de um programa de desenvolvimento. Conforme mostrado na Fig. 12.13, a senescência pode ocorrer no organismo inteiro ou somente em parte dele. No primeiro caso, encontram-se as plantas que frutificam uma única vez (monocárpicas), as quais normalmente morrem após a frutificação, mesmo quando as condições ambientais continuam 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 e touceiras de bambu, as quais podem demorar até dezenas de anos para florescer e frutificar, porém, quando o fazem, morrem rapidamente (Fig. 12.9A). 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 a morte dessas plantas. De fato, se os botões florais de uma planta monocárpica forem sucessivamente eliminados à medida que se formam, 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. 12.9B). A senescência pode ocorrer apenas nas folhas mais velhas, progredindo em direção às mais novas (Fig. 12.9C). 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. 12.9D). As flores podem também ser mencionadas

como órgãos de senescência simultânea, principalmente suas pétalas, sépalas e estames (Fig. 12.9E), o que é facilmente visível, por exemplo, nos nossos ipês e jacarandás-mimosos, ambos da família Bignoneaceae. Quando não fecundadas, as flores inteiras caem.

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 destruição 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, 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.

Embora a senescência envolva 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. Isso mostra, claramente, que a senescência não pode ser interpretada, conforme já mencionado, como um simples processo de

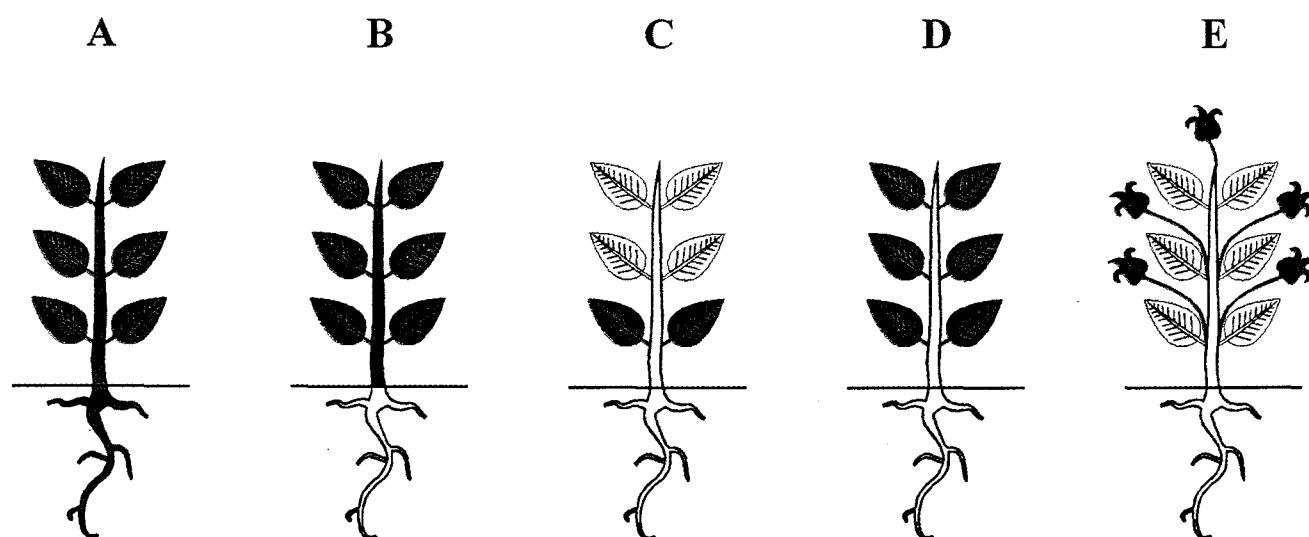


Fig. 12.9 Tipos principais de senescência em plantas superiores, com a morte da planta inteira (A); apenas a parte aérea (B); progressivamente das folhas mais velhas em direção às mais novas (C); simultaneamente em todas as folhas (D); e flores (E).

deterioração, mas como um evento regulado geneticamente, com começo, meio e fim, como qualquer outro processo do desenvolvimento vegetal.

Segundo o que se tem observado, alguns genes se encontram aparentemente desativados ou com baixa atividade durante o desenvolvimento das plantas, como é o caso dos genes associados à senescência (*sag*). Todavia, a partir de certo momento, passam a exercer um papel importante no desencadeamento da síntese de enzimas hidrolíticas.

Tanto quanto se sabe até o momento, o etileno e as citocininas são os hormônios mais de perto relacionados com a senescência. Uma elevação na produção de etileno e uma concomitante diminuição dos teores de citocininas têm sido observadas em órgãos senescentes. Tratamentos com Ethrel (substância que libera etileno) e ACC aceleram a senescência foliar, enquanto as citocininas retardam pronunciadamente o envelhecimento desse órgão (ver Cap. 9, Citocininas). O emprego de substâncias inibidoras da síntese de etileno, como aminoetoxivinilglicina (AVG) e íons cobalto, ou a ação desse hormônio, como alguns sais de prata (AgNO_3) ou gás carbônico, retardam a senescência. Postula-se que a senescência foliar seja regulada por um balanço entre etileno e citocininas. Todavia, vale salientar que, a exemplo do que ocorre com os demais fitormônios, a resposta ao etileno e citocininas vai depender da sensibilidade das células a ambos. De modo geral, a sensibilidade ao etileno aumenta à medida que o órgão se desenvolve e amadurece; órgãos ainda muito jovens não são responsivos ao etileno.

O etileno é o hormônio mais de perto envolvido com a senescência de folhas, flores ou partes florais. Evidências consistentes do envolvimento do etileno na senescência foram observadas em plantas mutantes para as proteínas receptoras de etileno (ETR1). Esses mutantes são praticamente insensíveis ao etileno, retendo por um período mais longo as clorofilas das folhas e sépalas, em relação às respectivas plantas selvagens. Outras evidências relacionadas à importância do etileno na senescência de folhas, pétalas e sépalas têm sido obtidas em plantas geneticamente modificadas por meio da inserção, em sentido inverso, da região codificante do gene de uma proteína

cujas função deseja-se bloquear. Dessa maneira, o produto da transcrição do gene inserido, o chamado RNAm anti-senso, será complementar ao produto da transcrição (RNAm) do gene endógeno. Os dois genes ligam-se por complementariedade de nucleotídeos, impedindo o acesso aos ribossomos. Como resultado, a produção da proteína em questão será reduzida. Plantas transgênicas portadoras de RNAm anti-senso para os genes que codificam a sintase do ACC ou oxidase do ACC, ambas envolvidas na síntese do etileno, exibem atraso na senescência das folhas, pétalas e sépalas. Flores de cravos (*Dianthus* sp.), que normalmente são muito sensíveis ao etileno, murchando rapidamente, quando modificadas por RNAm anti-senso apresentaram uma duração bem maior do que as respectivas flores não modificadas geneticamente. A utilização dessa tecnologia na floricultura abre amplas perspectivas para a melhora da qualidade de flores cortadas ou envasadas, aumentando a duração pós-colheita e todas as vantagens dela decorrentes.

AMADURECIMENTO DE FRUTOS

As angiospermas caracterizam-se, fundamentalmente, como plantas produtoras de sementes encerradas no interior do pericarpo (fruto), o que as difere amplamente das gimnospermas. Os frutos, tanto os carnosos quanto os secos, são órgãos relacionados à dispersão ou proteção das sementes, podendo apresentar as mais diferentes formas e tamanhos. Abóboras com mais de 250 kg já foram produzidas por alguns agricultores norte-americanos!

Uma combinação atrativa de coloração, aroma e sabor auxilia na dispersão das sementes de frutos carnosos por animais frugívoros. Os frutos secos, por outro lado, podem ser dispersos pelos elementos da natureza, como o vento e a água, ou através de animais, como é o caso do carrapicho, picão etc. Os frutos secos geralmente liberam suas sementes (deiscência) por meio de rupturas originadas do ressecamento e de tensões diferenciais das paredes endurecidas (esclerenquimáticas) do pericarpo. Muitas vezes, a ruptura envolve forças localizadas consideráveis, liberadas através de rupturas instantâneas, provocando ruídos que podem ser ouvidos a uma boa distân-

cia, como são exemplificados pelos estalos produzidos pelos frutos de mamona (*Ricinus communis*) ou pelas vagens de certas leguminosas, como a nossa sibipiruna.

A deiscência de frutos secos em locais predeterminados envolve a participação de tipos diferentes de células, aliados a eventos bioquímicos e genéticos específicos. Em frutos (síliquas) de *Arabidopsis thaliana*, a deiscência consiste na separação da camada de células não-lignificadas que se estende ao longo da síliqua, circundada por camadas lignificadas. As células da camada de separação teriam suas lamelas médias digeridas por um aumento na síntese e atividade de hidrolases, como as poligalacturases, β -1,4-glucanases, endotransglicosilases do xiloglucanos. Existem algumas poucas evidências da participação do etileno e das auxinas no controle da deiscência.

O amadurecimento dos frutos carnosos é um processo complexo, geneticamente programado, que culmina em mudanças acentuadas na coloração, textura, sabor e aroma. Devido à importância econômica que apresentam, muitos esforços de pesquisas têm sido realizados nas áreas de fisiologia, bioquímica, genética e biologia molecular das plantas frutíferas. Os frutos carnosos têm sido divididos em dois grandes grupos distintos com relação aos mecanismos de amadurecimento: os frutos *climatéricos* e os frutos *não-climatéricos*. Os primeiros caracterizam-se, fundamentalmente, por uma elevação intensa e rápida na produção de etileno, acompanhada por um aumento substancial na taxa respiratória; banana, tomate, abacate, maçã, pêssego, ameixa, figo, manga, caqui, fruta-do-conde, atemóia e graviola são bons exemplos de frutos com esse tipo de amadurecimento. Os frutos não-climatéricos, caracterizam-se por uma baixa taxa respiratória e de produção de etileno. A aplicação de etileno em frutos climatéricos induz a produção desse hormônio pelos tecidos, processo esse decorrente de uma reação autocatalítica, ou seja, o produto da reação estimulando sua própria síntese. Além disso, a capacidade de resposta ao etileno exógeno ou endógeno pelos tecidos depende, substancialmente, do estágio de desenvolvimento dos frutos, sendo os maiores níveis de competência para tanto verificados

principalmente após alcançarem o tamanho máximo, com as cascas ainda verdes (*mature green*).

Uva, morango, cereja e abacaxi são frutos não-climatéricos, cujo amadurecimento é ainda pouco compreendido. Estudos da expressão gênica realizados em morango (neste, o que é chamado de "fruto" nada mais é do que o receptáculo intumescido, sendo os pequenos aquênios externos os verdadeiros frutos) revelaram que, nos aquênios, os genes mais ativos estavam envolvidos principalmente com proteínas relacionadas com a acumulação de reserva e tolerância à dessecação, bem como com a síntese de fosfatases e cinases. Nos receptáculos, por sua vez, as proteínas (enzimas) mais abundantes mostraram-se relacionadas ao metabolismo primário, na promoção de modificações nas paredes celulares e mudanças na pigmentação, refletindo em alterações do sabor, aroma, textura e coloração (Aharoni e O'Connell, 2002), eventos esses típicos da maturação de frutos carnosos. Estudos do sabor do morango evidenciaram a presença de 13 compostos voláteis, sacarose, glicose e ácido cítrico, cujas quantidades podem variar de fruto para fruto. A diminuição da concentração de sacarose observada entre as colheitas estaria associada com uma redução da radiação solar, tanto que um breve período de sombreamento era suficiente para provocar uma diminuição tanto dos compostos voláteis quanto de sacarose e glicose (Watson *et al.*, 2002).

A importância do etileno no amadurecimento de frutos climatéricos tem sido fortemente evidenciada por meio da aplicação do etileno ou Ethrel ou de seus inibidores da síntese, como o AVG, ou da ação, como o nitrato de prata, tiosulfato de prata ou 1-metilciclopropano (1-MCP). Uma das maiores evidências do envolvimento do etileno no amadurecimento de frutos climatéricos foi obtida em plantas transgênicas de tomate, com a inibição da expressão gênica codificadora da sintase do ACC e da oxidase do ACC através de seus respectivos RNAs anti-sensos, resultando na obtenção de frutos com capacidade reduzida de produção de etileno e atraso no amadurecimento, os quais podem ser estocados por períodos mais longos.

Frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) têm sido usados como um bom modelo experimental para

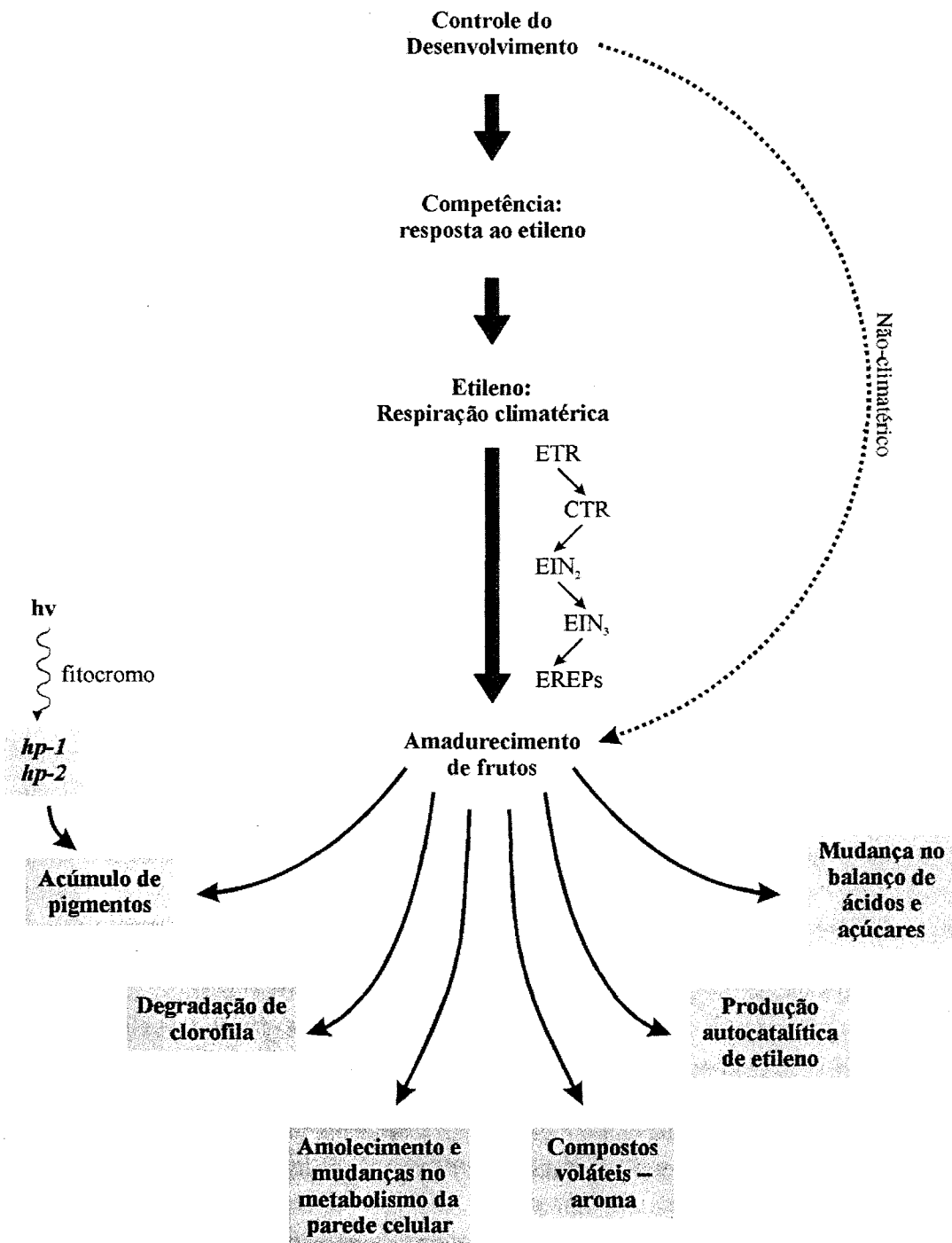


Fig. 12.10 Amadurecimento de frutos. As mudanças que ocorrem em tomate, um fruto climatérico, são apresentadas neste esquema, mostrando o envolvimento do etileno que se liga ao receptor ETR ativando as proteínas EIN2, EIN3 e ERF1, que desencadeiam as respostas de mudança como de coloração, sabor e amolecimento. Os frutos não-climatéricos não dependem do etileno para que ocorra o amadurecimento. (Modificado de Giovannoni, 2001:)

estudos de amadurecimento. Neles, vários genes já foram identificados, como os que codificam a sintase do ACC (*leacs*) e oxidase do ACC (*leaco*) – *le* representa a primeira letra do gênero e da espécie –, ambos envolvidos na biossíntese do etileno. Oito genes que codificam para a sintase do ACC e três para a oxidase do ACC foram identificados, porém *leacs2* e *leaco1* parecem ser os mais dominantes na produção de etileno nesses frutos. Seis genes responsáveis pela codificação de receptores de etileno (*leetr*) também foram identificados em frutos de tomate, os quais ocorrem também em flores dessa espécie. Do ponto de vista gênico, é interessante destacar que o *leetr3* é homólogo ao gene *etr1* de *Arabidopsis thaliana*, o que aponta para uma ocorrência ampla dessa família gênica nas angiospermas. Além disso, sabe-se que uma mutação semidominante do *leetr3* resultou no fenótipo conhecido como *never ripe* (*nr*), cujos frutos nunca amadurecem. Todos os genes *leetr* são expressos em tecidos reprodutivos, incluindo as flores, sendo o *leetr4* o mais abundante deles. A expressão de *leetr3* (*nr*) muda intensamente durante o amadurecimento do fruto, indicando que cada receptor de etileno é produzido com diferenças temporais e espaciais, dependendo do estágio de desenvolvimento e dos estímulos externos.

No amadurecimento do tomate, podem ser observadas várias mudanças (Fig. 12.10). A mais perceptível delas é, sem dúvida, a alteração de cor, resultante da degradação das moléculas de clorofila, acompanhada simultaneamente por uma elevação das de carotenóides (β -caroteno e licopeno), transformando os cloroplastos em cromoplastos. Estudos com frutos mutantes de tomate ricos de carotenóides (*high-pigment-hp*) evidenciaram o envolvimento da luz no acúmulo desses pigmentos. Enquanto a luz vermelha favorecia o acúmulo de licopeno, a luz vermelha extrema revertia o processo, sugerindo um aparente envolvimento do fitocromo nesse processo.

O amolecimento dos frutos é causado, em última análise, por modificações que ocorrem nas paredes celulares. Conforme verificado em tomate, no início desse processo, as paredes celulares tornam-se mais hidratadas. Diversas enzimas atuam no amolecimento. Uma delas é a liase do pectato, responsável pela desesterificação da pectina, que resulta em alterações

na coesão da pectina e no enfraquecimento das ligações entre as células, facilitando a separação destas, com as conseqüentes alterações na textura do fruto em amadurecimento. A desesterificação de outros compostos da parede celular, como as poligalacturonanas, pela esterase da pectina, torna as células susceptíveis a degradação pela poligalacturonase. A síntese desta última enzima durante o amadurecimento depende da presença do etileno. Outra enzima também dependente desse hormônio é a β -galactosidase, que hidrolisa polímeros de galactose. A expressão de pelo menos seis genes envolvidos na síntese de expansinas foi observada durante o desenvolvimento dos frutos de tomate, sendo pelo menos um desses genes regulado pelo etileno, sugerindo que essas enzimas teriam também alguma participação no amolecimento deles.

As alterações de sabor dos frutos carnosos podem ser atribuídas, simultaneamente, ao aumento de compostos voláteis específicos e a alterações da relação entre ácidos e açúcares. São muitos os compostos voláteis, destacando-se dentre eles os álcoois, aldeídos e ésteres. Mais de quatrocentas substâncias voláteis foram detectadas em frutos de tomate de diferentes variedades; entre essas substâncias, sete mostraram-se mais importantes como o hexanal, hexenal, hexenol, 3-metilbutanal, 3-metilbutanol, metilnitrobutano e isobutiltiazol. Este último é um dos mais importantes na composição do aroma. A lipoxigenase controla a formação de hexanal e hexenal, tendo como principais substratos os ácidos linoléico e linolênico. Uma família de cinco genes está envolvida na formação da lipogenase, e pelo menos um desses genes, o *tomlox b*, é regulado pelo etileno.

Conforme visto até agora, o papel do etileno na maturação de frutos é complexo e ainda relativamente pouco compreendido. De qualquer maneira, têm sido observadas algumas similaridades entre os dois tipos de frutos carnosos. Assim, por exemplo, certos eventos dependentes do etileno nos frutos climatéricos podem ser verificados também na presença de concentrações muito baixas de etileno, ou mesmo numa aparente ausência desse hormônio em frutos não-climatéricos. Paradoxalmente, tal constatação sinaliza para o fato de que uma melhor compreensão do con-

trole do amadurecimento em frutos não-climatéricos pode vir a contribuir para o entendimento da maturação dos frutos climatéricos.

ABSCISÃO

Ao longo do seu 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 corpo da planta e se estabelecem, precocemente, durante o desenvolvimento do órgão.

Baseado 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, dessa maneira, a queda dos órgãos (ver Cap. 8, Auxinas). De fato, a aplicação de etileno estimula a abscisão após as células da camada de abscisão terem alcançado 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 (ver Cap. 8, 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 celulasas e poligalacturonases.

Conforme mostrado esquematicamente na Fig. 12.11, inicialmente as células da zona de abscisão são relativamente pequenas e com citoplasma denso. Nessa condição, a folha mantém-se ligada à planta devido a um gradiente de auxinas fluindo do limbo em direção ao caule, tornando as células dessa camada pouco sensíveis ao etileno (Fig. 12.11A). O desenvolvimento da zona de abscisão com a diminuição do gradiente de auxina está associado a maturidade foliar, estresse ou ácido abscísico, que eleva substancialmente a sensibilidade dessas células ao etileno (Fig. 12.11B), de forma que mesmo um pequeno aumento deste último é suficiente para estimular a formação de enzimas como as celulasas, que hidrolisam a celulose da parede celular, causando a abscisão (Fig. 12.11C). 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 são suberificadas e morrem, contribuindo assim para a formação de uma camada de proteção externa (Fig. 12.11D).

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 (*cell* a *cel7*) envolvidos com sete diferentes isoenzimas. Na separação do pedúnculo, o maior nível de expressão foi encontrado nos genes *cell*, *cel2* e *cel5*.

A poligalacturonase está também relacionada com a separação de células tanto na abscisão de folhas

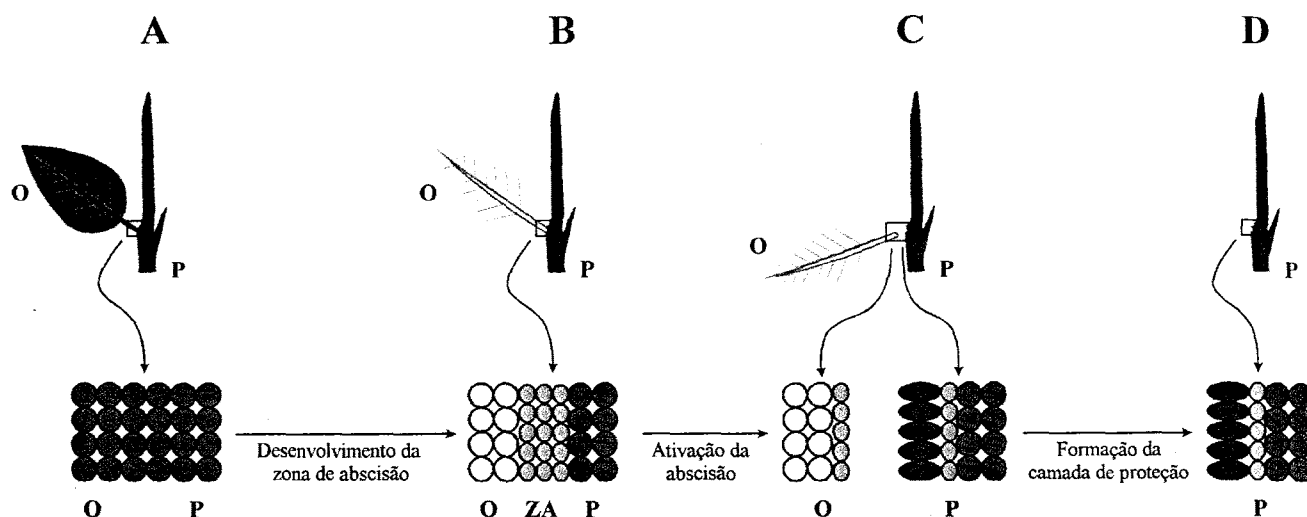


Fig. 12.11 Representação esquemática da abscisão de órgãos (folhas, flores ou partes florais). A) Órgão (O) unido à planta (P) contendo células pequenas no local de ligação; B) essas células são diferenciadas em zona de abscisão (ZA) devido à diminuição do teor de auxina e aumento da sensibilidade ao etileno; C) na zona de abscisão ocorre a separação do órgão pela ação da celulase; D) nesse local é formada uma camada de proteção.

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 também 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 conseguiam 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, 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 epidermal. 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 desempenharia 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. 12.12). 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 estas eram 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 ad-

ventícias, estas agora possuidoras de aerênquima, que substituem as raízes mortas ou prejudicadas pelos teores baixos de O_2 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 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. 12.13).

AERÊNQUIMA

A anatomia das raízes pode ser profundamente alterada em plantas submetidas ao alagamento; nes-

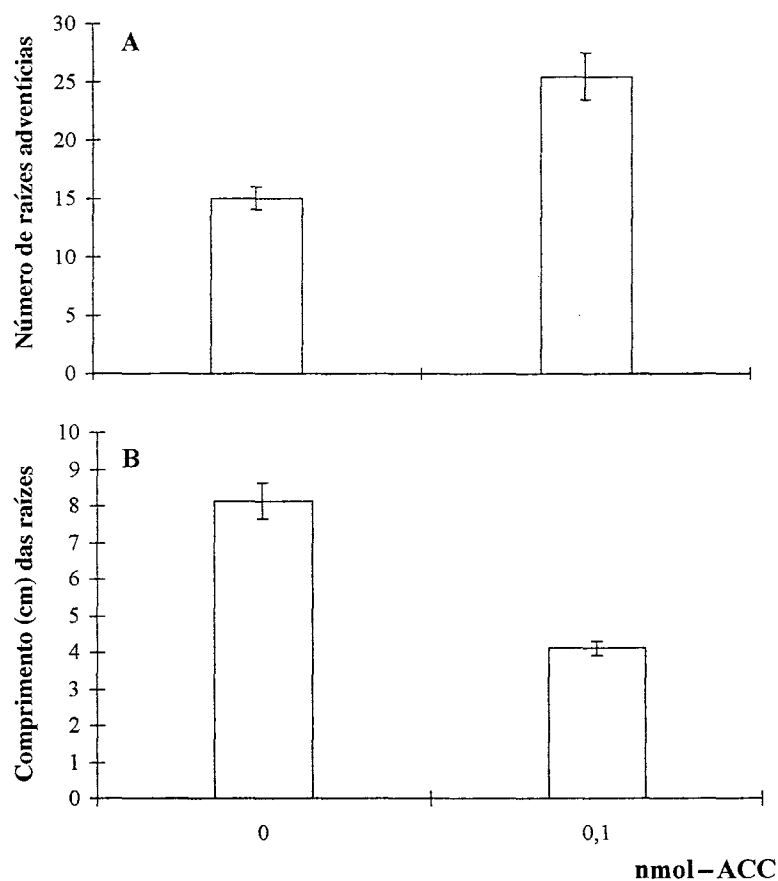


Fig. 12.12 Efeitos da aplicação de ACC após 72 horas em estacas de *Vigna radiata*. O etileno promove a formação de um maior número de raízes adventícias (A), porém inibe o crescimento longitudinal destas (B). (Modificado de Riov e Yang, 1989.)

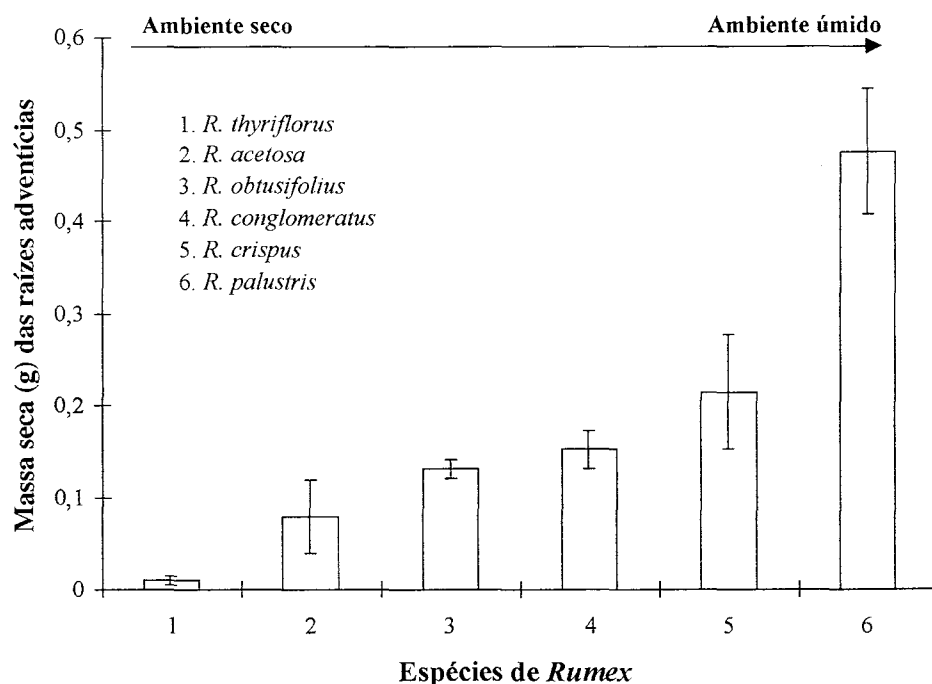


Fig. 12.13 Massa seca (g) das raízes adventícias desenvolvidas em espécies de *Rumex* crescidas em um gradiente de ambientes secos a úmidos nas margens do rio Reno (Holanda). Os valores correspondem à média de 3 amostras \pm erro padrão. 1. *R. thyriflorus*; 2. *R. acetosa*; 3. *R. obtusifolius*; 4. *R. conglomeratus*; 5. *R. crispus*; 6. *R. palustris*. (Modificado de Voesenk e Van Der Veen, 1994.)

ses casos, desenvolvem-se raízes aerenquimatosas, cuja principal função é facilitar a aeração (Fig. 12.14). O aerênquima pode ser formado tanto pelo afastamento de células (aerênquima esquizógeno) quanto através da lise celular (aerênquima lisígeno). O aumento na circulação do ar promovido pelo aerênqui-

ma 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

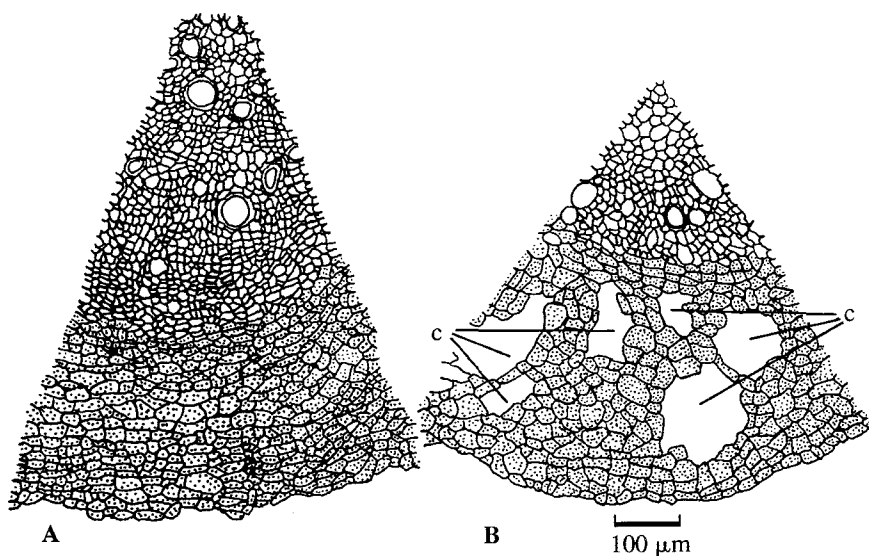


Fig. 12.14 Câmaras aerenquimatosas (c) em cortes transversais de raízes secundárias de *Spatodea campanulata*. A. Plantas em solo drenado. B. Plantas em solo alagado. (Medri e Correa, 1985.)

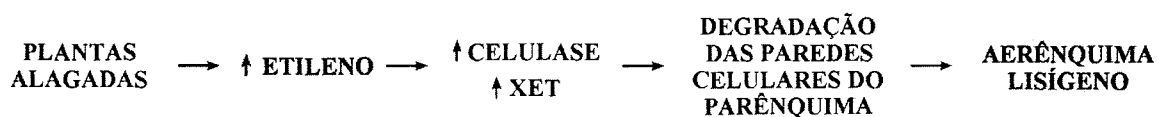


Fig. 12.15 Representação esquemática das etapas envolvidas na formação de aerênquima lisígeno.

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 endotransglicosilase do xiloglucan (XET), que digerem 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. 12.15). 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 correspondentes 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.
- 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.
- 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 *Peltophorum dubium* (Spr.) Taub. submetida ao alagamento e à aplicação de Ethrel. *Revta Brasil Bot*, 1998; 21:261-7.

Rioy 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 Pouche M (eds). *Biochemical and Physiological Aspects of Ethylene Production in Lower and Higher Plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1989, pp 151-6.

Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Two-component systems in plant signal transduction. *Trends in Plant Science*, 2000; 5:67-74.

Voesenk 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.

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 Wiles & 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*, 3.^a ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, Publishers, 2002; p. 651-70.
- 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; 104:771-77.

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 sequência 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. 13.1).

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 apli-

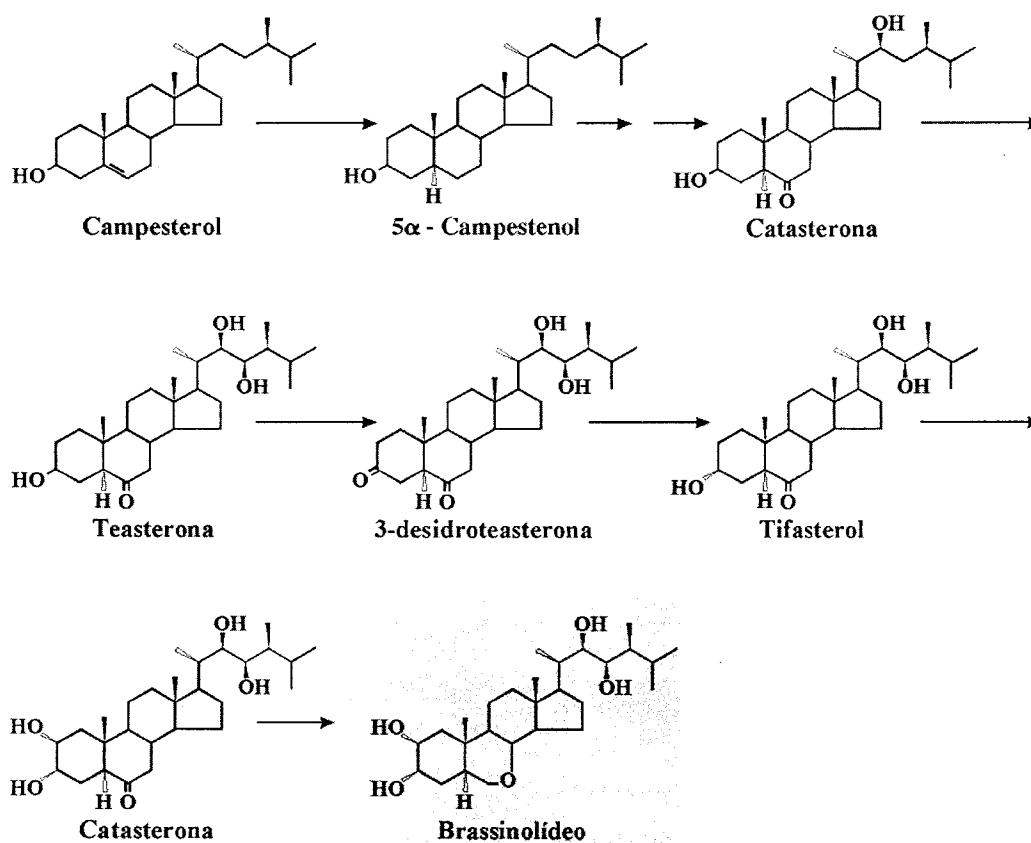


Fig. 13.1 Via esquemática da biossíntese dos brassinosteróides.

cação 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 substâncias 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 80, 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 inibitórias 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. 13.2) através de duas vias metabólicas: a primeira

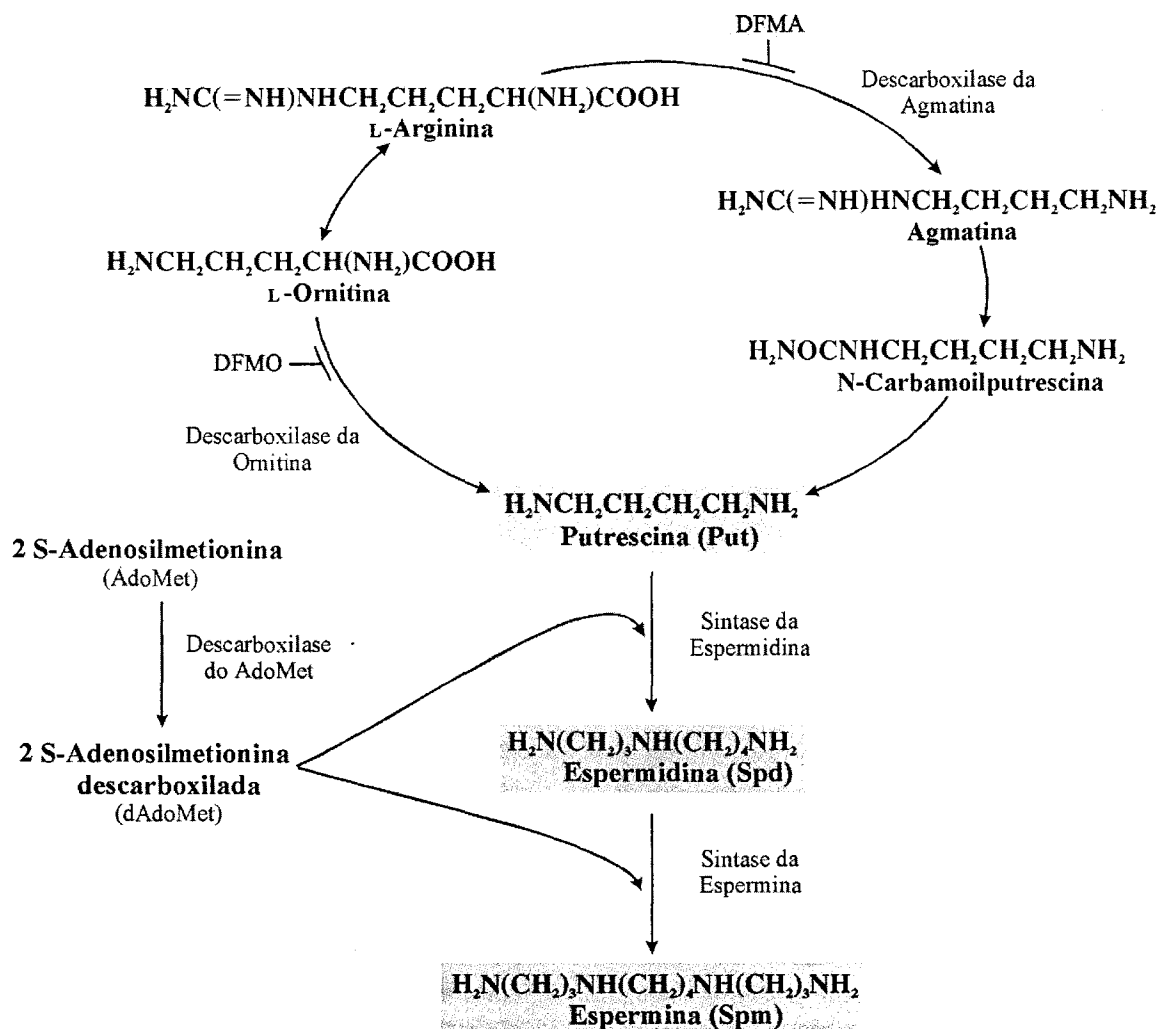


Fig. 13.2 Via esquemática da biossíntese das poliaminas. O composto L-arginina origina duas vias: a da L-ornitina e a da agmatina, que são precursores das poliaminas (putrescina, espermidina e espermina). As poliaminas e o etileno compartilham o precursor S-adenosilmetionina. As substâncias DFMA (α -difluorometilarginina) e DFMO (α -difluorometilornitina) são inibitórias da síntese das poliaminas.

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. 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 enzi-

mas 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 estimulada 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.

que eventualmente ativam as lipases, como a sistemina (um polipeptídeo), promovem a formação do ácido jasmônico (Fig. 13. 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. 13. 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,

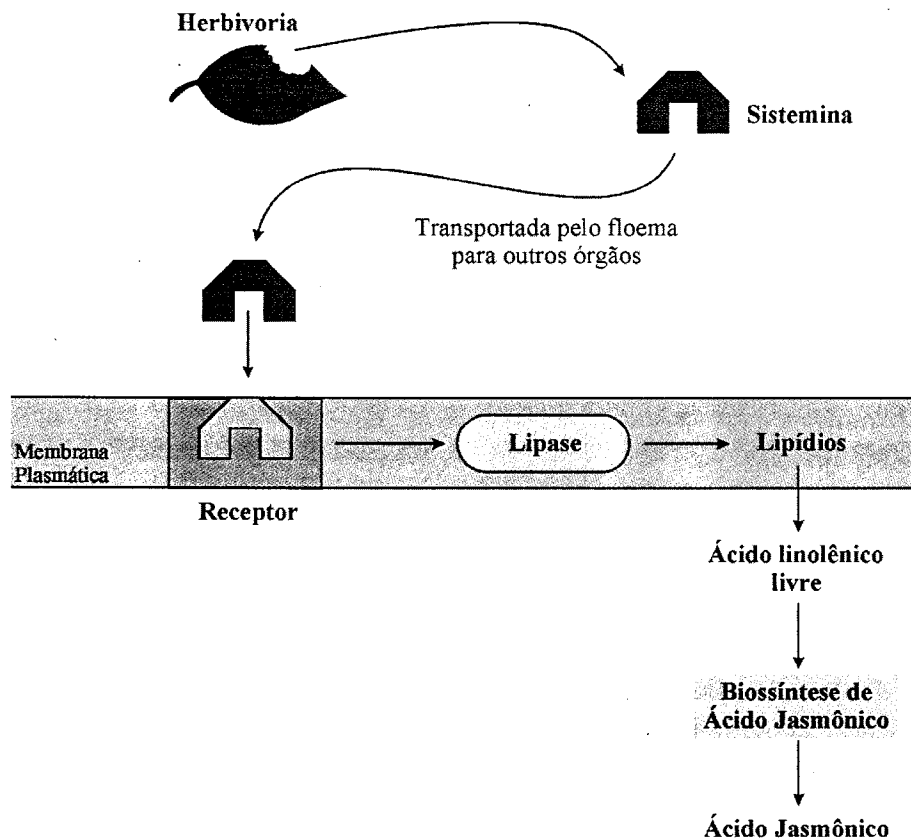


Fig. 13.4 Em plantas feridas é desencadeada a formação da sistemina, que é transportada para outros órgãos da planta, ligando-se a um receptor, o que causa a ativação da lipase promovendo a formação do ácido jasmônico. (Modificado de Creelman e Mullet, 1997b; Taiz e Zeiger, 2002.)

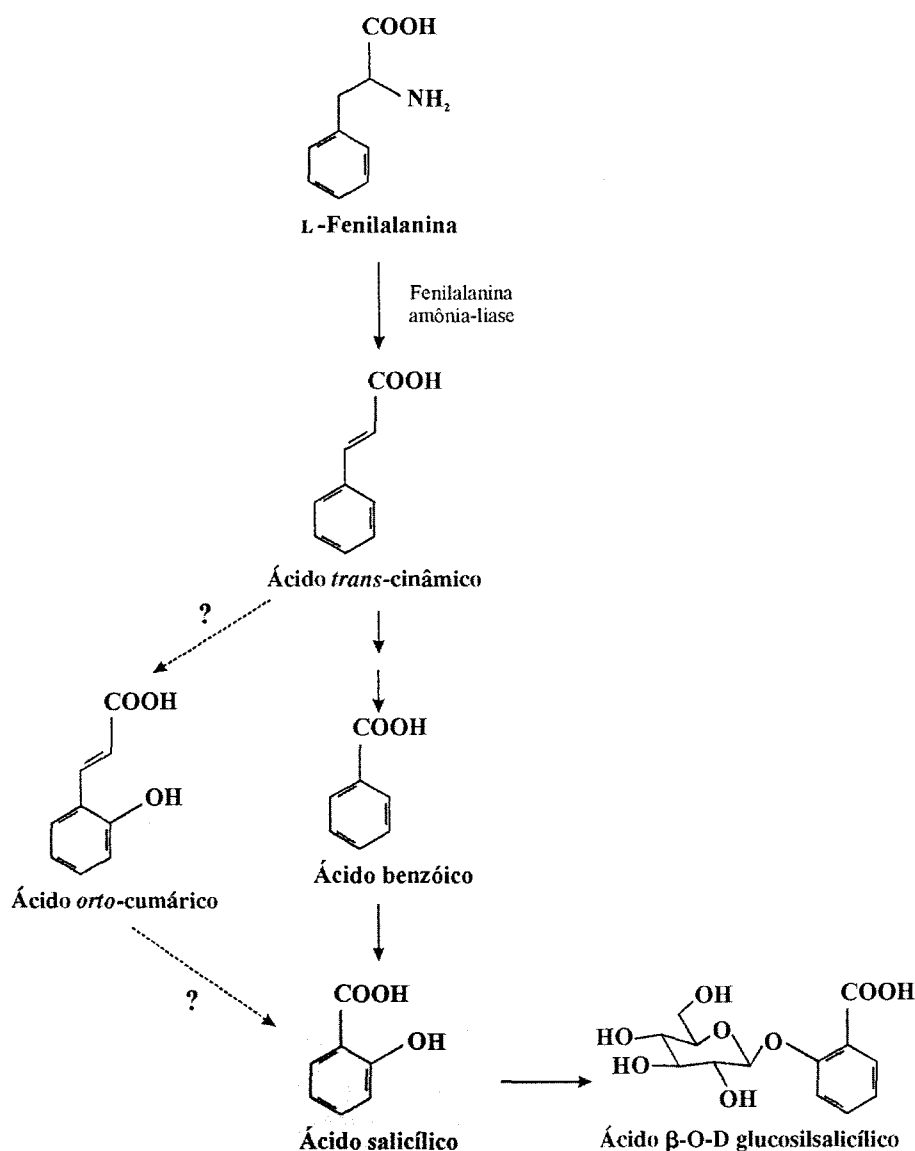


Fig. 13.5 Via esquemática da biossíntese do ácido salicílico em plantas.

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).

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 mem-

branas, 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 microscópica*. 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 trans-

porte 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 subsequentes.

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 bi-

ossíntese 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.

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 14.1).

As plantas recebem *estímulos* do ambiente e são *induzidas* a respostas através de *receptores* 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? Esses tipos de perguntas são de difícil elucidação, porque as respostas de órgãos, como folhas, raízes e caules, não são especializadas a só um 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 coleóptile 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. 14.1). 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.

TABELA 14.1 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 <math><0^\circ</math> e $>90^\circ$ 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 que provocam curvamento das folhas, por exemplo.
Tigmonastia	Resposta a estímulo mecânico não orientada em relação a este.

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 a energia ou fluxo fotônico (taxa de fluência). Então, o fluxo e duração criam uma reciprocidade entre si; um aumentando, o outro pode diminuir. Isso

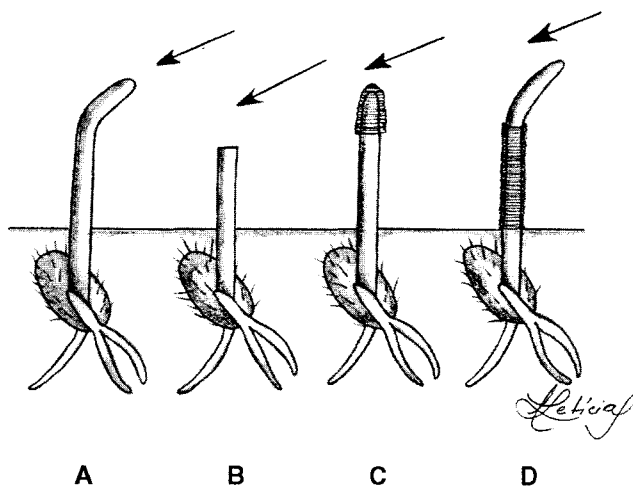


Fig. 14.1 Fototropismo em coleóptiles de aveia desenvolvidos no escuro e depois iluminados lateralmente conforme a seta. As plantinhas com ápice cortado ou coberto (B e C) permaneceram retas, e aquelas mantidas intactas (A) ou com seus ápices expostos (D) curvaram-se em direção à luz.

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, de modo a haver saturação dos receptores (Fig. 14.2).

Quase simultaneamente, Cholodny, com ápices de raízes, e Went, com ápice de coleóptile (folha primordial das gramíneas), determinaram que esses tinham influência sobre a manifestação fototrópica que ocorria na região posterior de alongamento. Dessa forma, a hipótese de Cholodny-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. Alternativamente, foi proposto que, no lado mais iluminado, haveria maior destruição das auxinas pela AIA-oxidase, que seria fotodependente. Uma segunda hipótese alternativa

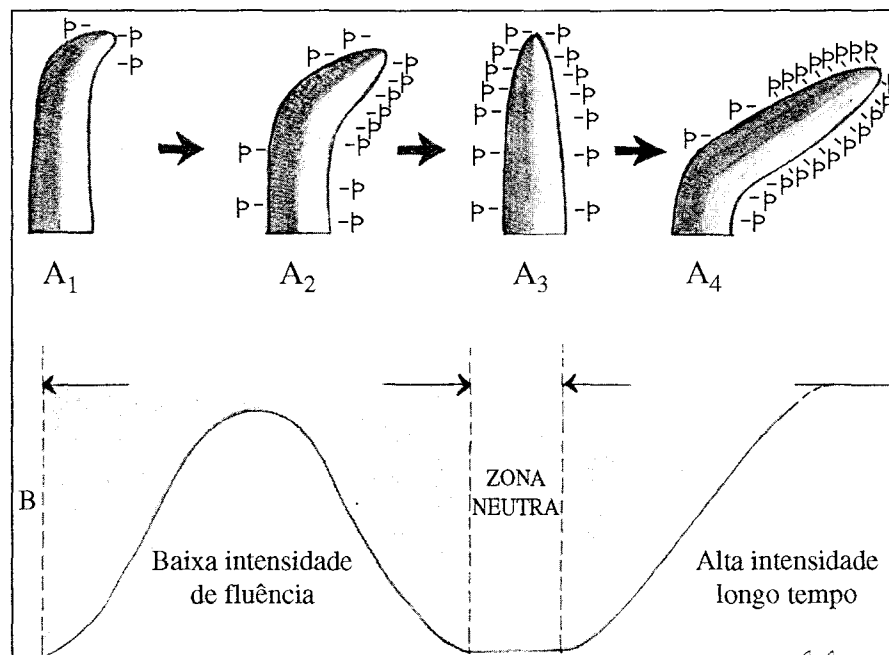


Fig. 14.2 A curva típica de resposta à fluência para o fototropismo. A_1 . Pequeno gradiente de p (receptor) causa leve curvatura no ápice; A_2 . Intenso gradiente de p junto ao ápice causa curvatura máxima; A_3 . Ausência de gradiente de p , no ápice e base, curvatura ausente; A_4 . Curvatura acentuada para um gradiente devido à intensa iluminação por tempo longo. B. Modelo de fosforilação para a primeira curvatura positiva (baixa intensidade de fluência), zona neutra, e a segunda curvatura positiva (como em A_4).

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. Mais recentemente foi retomada por Pilet e cols. na França, que sustentam haver um gradiente entre a parte iluminada e a menos iluminada, com mais inibidor de crescimento (ácido abscísico) em maior concentração no lado mais iluminado. Briggs e cols., em cuidadosos experimentos, mostraram, repetindo alguns experimentos de Went, que, em coleóptiles 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. 14.3). Demonstraram, ainda, que a ilumi-

nação 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. 14.4). Há evidências de que uma flavoproteína (116-KDa) associada à membrana plasmática (NPH1) é o fotorreceptor para fototropismo, sendo responsável pelas respostas fototrópicas no comprimento de onda azul. Nessa faixa do espectro, a flavoproteína, que é uma proteína cinase, é autofosforilada, o que induz o deslocamento da auxina para o lado mais sombreado do coleóptile, garantindo as respostas de curvatura. Foi demonstrado, também, que a iluminação com luz azul unilateral causa um gradiente de fosforilação da NPH1, e esse gradiente de concentração do receptor de início é maior junto ao ápice. A continuidade por mais tempo do estímulo e/ou maior intensidade provoca o aparecimento do receptor fosforilado mais distante do ápice, sendo essa condição a mais comum na natureza (Fig. 14.2).

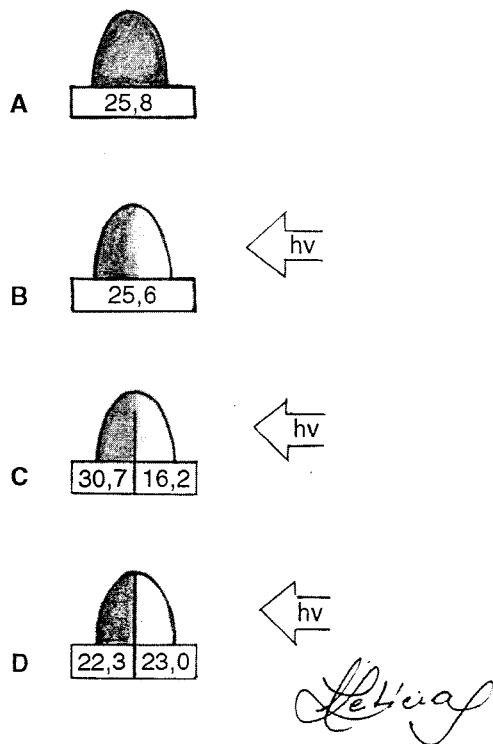


Fig. 14.3 Distribuição assimétrica da auxina difusível em ápices de coleóptiles excisados de milho após a estimulação fototrópica. A e B. Ápices – controles intactos. C. Ápice parcialmente fendido, isolado por lâmina de vidro, onde apenas muito próximo ao ápice havia sido mantida a continuidade do tecido. 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.

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.

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 paraftotrópica (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

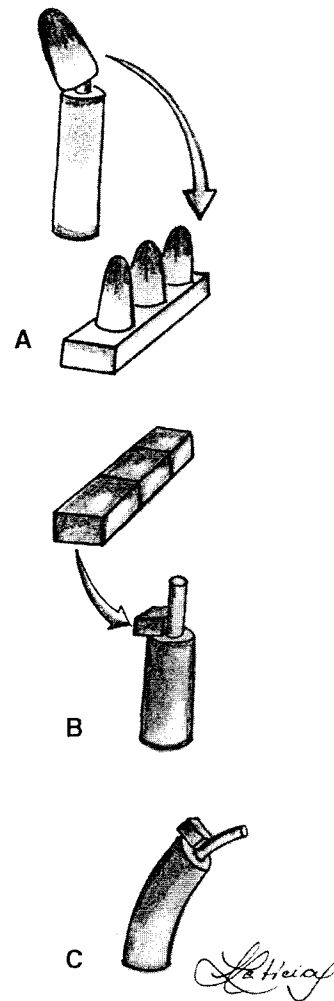


Fig. 14.4 Experimentos de F. Went. A. A extremidade dos coleóptiles foram removidos e colocados por 1 hora sobre blocos de ágar. B. O ágar, após retirada dos ápices de coleóptiles, foi cortado em pequenos pedaços e colocado assimetricamente sobre o coleóptile não induzido. C. Curvatura do ápice para o lado oposto ao pedaço de ágar. Os experimentos foram conduzidos no escuro, e a curvatura do coleóptile 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.

diafototrópicas, colocando-se as folhas ortogonais à fonte luminosa (Fig. 14.5). 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

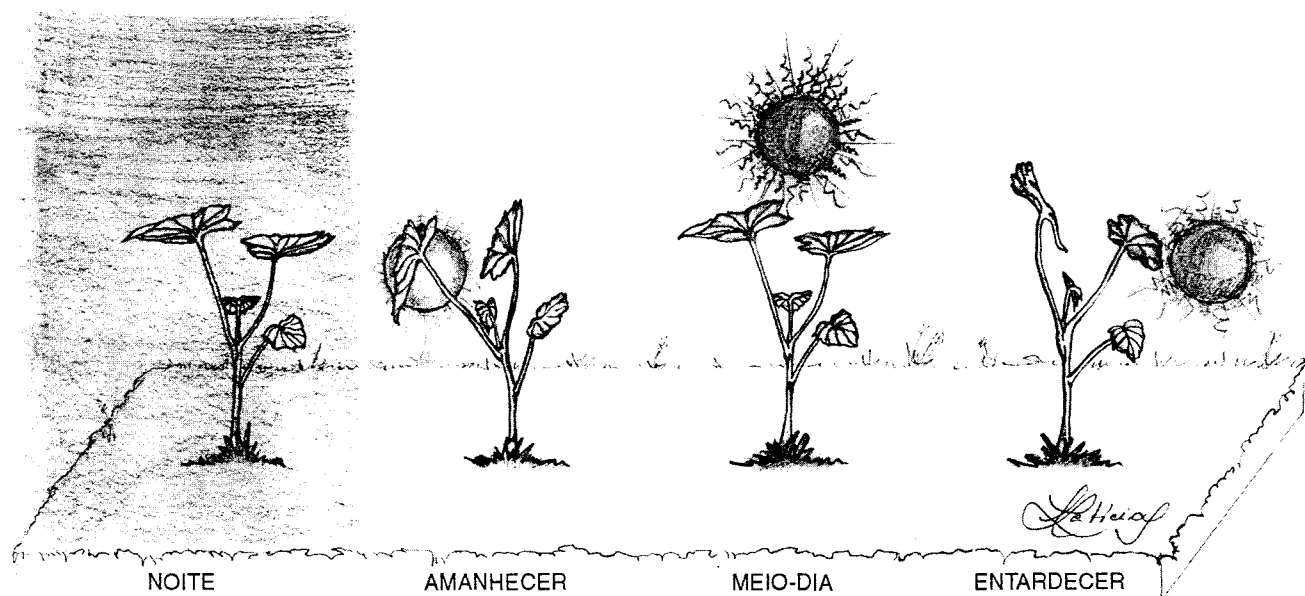


Fig. 14.5 Orientação das folhas de malva em relação à posição do sol durante um dia. O limbo posiciona-se de forma a receber os raios solares o mais ortogonalmente possível. Nas regiões tropicais, o comportamento pode ser distinto (devido à alta intensidade luminosa).

delas 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 foi 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. 14.6). Órgãos que crescem em ângulos diferentes de 0° ou 90° , como muitas raízes secundárias, são então denominados de **plagiogravitrópicos** (Fig. 14.7).

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 pon-



Fig. 14.6 *Araucaria angustifolia* no sul do Brasil, na qual se pode observar o diageotropismo dos galhos. (Foto de R. Zandavalli.)

tas 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 de intensidade do estímulo pelo tempo de aplicação:

$$D = t \cdot a, \text{ onde } \begin{aligned} D &= \text{estímulo gravitacional ou dose} \\ t &= \text{tempo em segundos} \\ a &= \text{aceleração da massa pela gravidade em gramas.} \end{aligned}$$

A dose limiar é dependente da temperatura; dessa forma, para coleóptiles 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 define graviestímulos são: tempo de apresentação, tempo de reação e intensidade limiar.

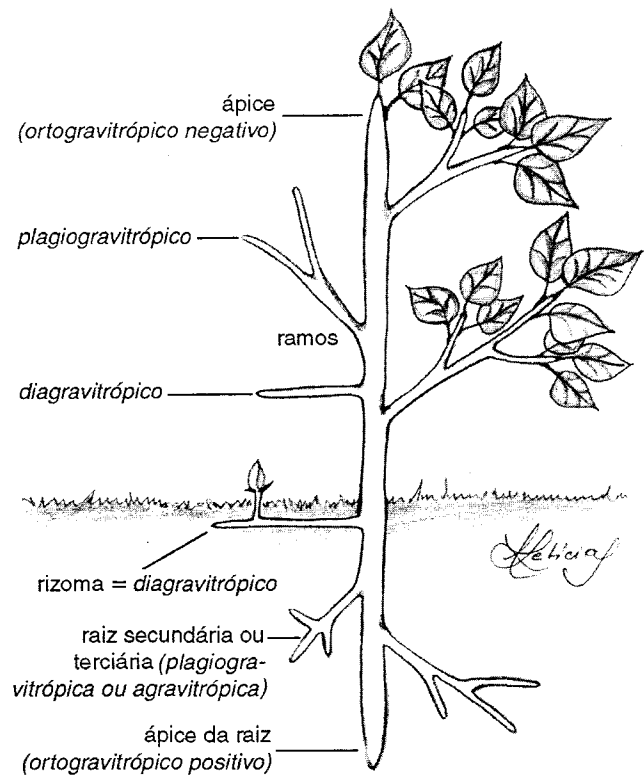


Fig. 14.7 Diagrama ilustrando os vários tipos de respostas gravitrópicas em plantas.

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 coleóptile 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 ini-

bir 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. 14.8).

O lado inferior da raiz intacta, depois de a planta permanecer certo tempo na posição horizontal, é mais ácido do que o lado superior, e sabe-se que o crescimento de paredes depende de uma maior acidez, na qual está envolvido o efeito da auxina.

Além do gradiente diferencial de auxina, também o Ca^{++} parece estar envolvido nas respostas gravitrópicas. Usando Ca^{++} 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 sequestra íons Ca^{++} , nulifica a resposta gravitrópica. 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, alterariam a permeabilidade destas e provocariam a entrada de grande quantidade de cálcio no citoplasma. O Ca^{++} complexar-se-ia com a calmodulina, ativando várias enzimas, tendo como expressão morfogênica final a curvatura da ponta da raiz para baixo por crescimento inibido na parte inferior, mas não na parte superior.

CAULES E COLEÓPTILES

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. 14.9).

Percepção

Nos caules, os lados de percepção e resposta são os mesmos. Isso é verdadeiro para coleóptiles, hipocótilos e caules adultos, mesmo que o ápice seja remo-

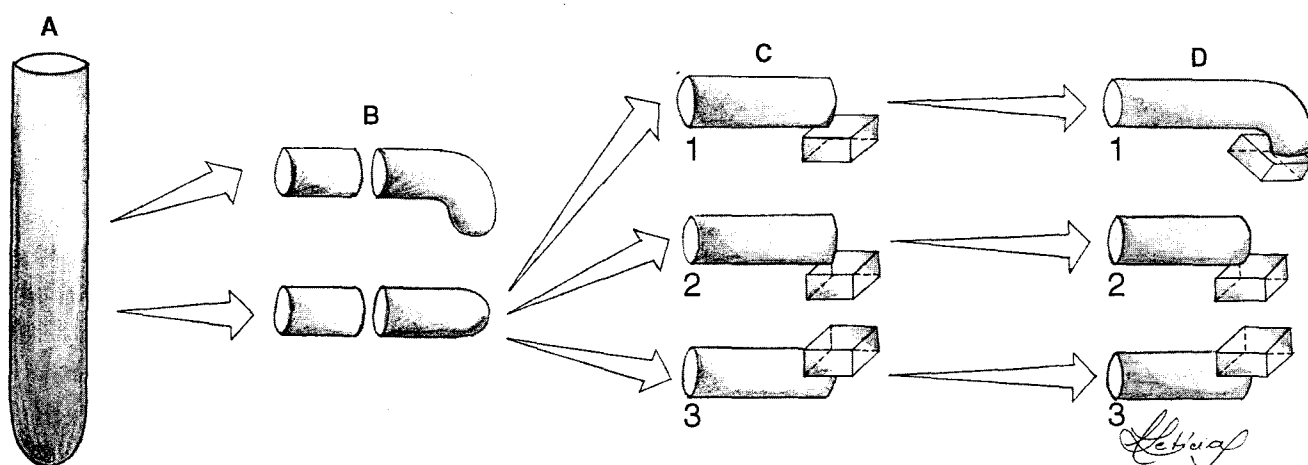


Fig. 14.8 A. Ápice de raiz intacta de uma plantinha em posição normal vertical. B. Colocada na posição horizontal, quando intacta, apresenta gravitropismo; quando seccionada, não apresenta. C1. Raízes com a ponta seccionada na qual se adicionou um bloco de ágar com AIA. C2. Ágar sem AIA; não houve reação. 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.

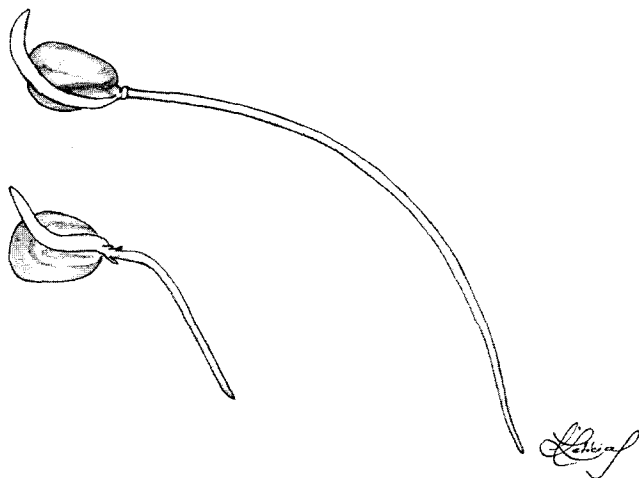


Fig. 14.9 Gravotropismo em platinhas de milho (*Zea mays*), colocadas, aos 4 dias de idade, na posição horizontal por 3 horas. Na parte aérea, observa-se o gravitropismo negativo, enquanto na raiz ele é positivo.

vido. De fato, no tecido parenquimático perivascular, encontram-se grãos de amido que desempenham um papel de estatólitos, sendo células desse tecido os estatócitos do sistema. No tecido perivascular dos coleóptiles 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 gravitrópicas. 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 apre-

sentaram respostas gravitrópicas 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. Sabe-se que esse íon inibe o crescimento.

O que se pode observar é que as respostas gravitrópicas 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.

Outros tropismos

TIGMOTROPISMO

São respostas de crescimento orientadas pelo contato. São especialmente evidentes em gavinhas de chuchu e outras cucurbitáceas ou de videiras (Fig. 14.10). 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 fitormônios, Ca^{++} e calmodulina.

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 arabinogalactanos, glicoproteínas e lipoproteínas, além de um potencial eletroquímico produzido por íons K^+ . A real natureza desse



Fig. 14.10 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.

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. 8, 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 ACC-oxidase. O etileno produzido na parte aérea contribui para o epinastismo de folhas e pecíolos (ver Cap. 12, Etileno). A resposta reversa ao epinastismo, o hiponastismo (isto é, curvatura de órgãos para cima devido a uma maior taxa de cresci-

mento na parte inferior do órgão), ocorre com menor 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 alteração 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 movi-

mento hidronástico é a perda diferencial de água em células foliares especiais dotadas de 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. 14.11).

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. 14.11).

Nictinastismo (do grego, *nyctos* = noite, *nastos* = fechamento)

É um dos nastismos mais bem estudados. Refere-se a folhas que assumem uma posição noturna dife-

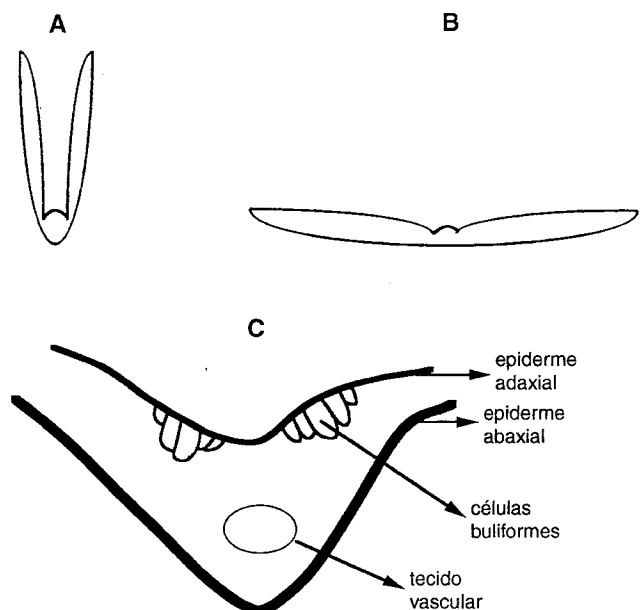


Fig. 14.11 Hidronastismo em folha de gramínea. A. Posição dobrada (células buliformes murçadas). B. Posição expandida (células buliformes túrgidas). C. Esquema de corte transversal de folha mostrando a posição das células buliformes com distribuição na epiderme adaxial ao longo do eixo central do órgão.

rente 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. 14.12A).

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 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 na década de 20 e 30 utilizaram movimentos nictinásticos de feijoeiro para estudar o relógio circadiano (Fig. 14.12C). O mecanismo básico desses movimentos, no entanto, só foi esclarecido principalmente na década de 80, tendo sido reexaminado mais recentemente por diversos autores.

Todos os movimentos nictinásticos ocorrem em função de mudanças reversíveis de turgor nos *pulvinos* (Mayer e Hampp, 1995). Pulvinos são bases espessadas das folhas, geralmente cilíndricos 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 dobra-

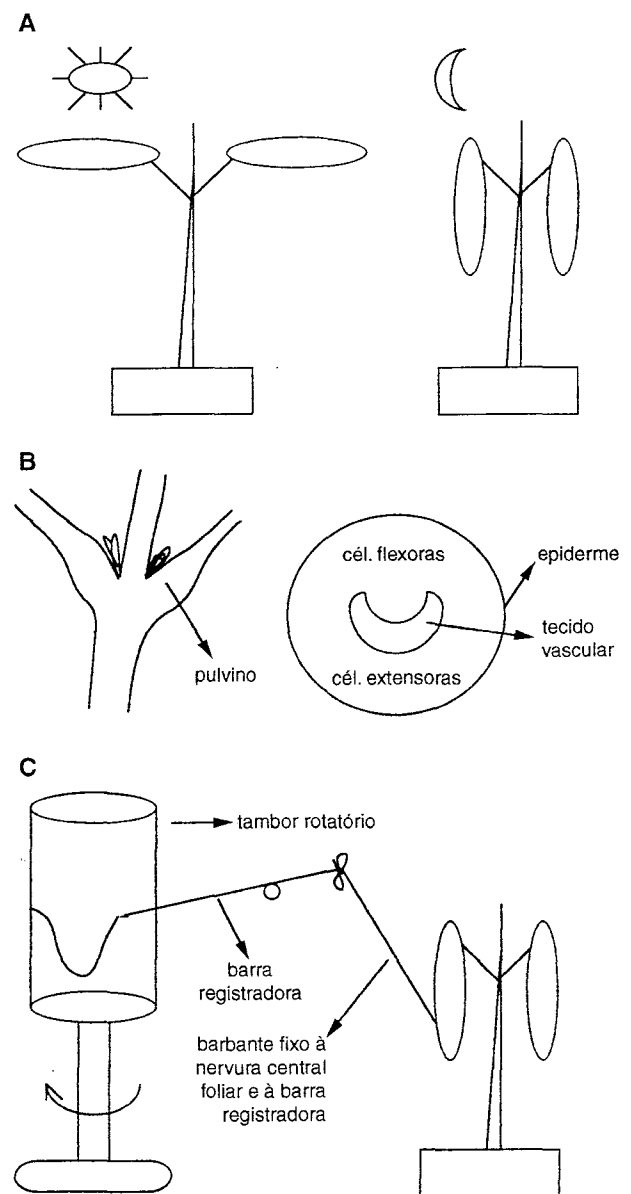


Fig. 14.12 Nictinastismo em folhas primárias de feijoeiro. A. Posição foliar horizontal diurna e vertical noturna. B. Pulvinos na base dos pecíolos. Os pulvinos são os órgãos responsáveis pelo movimento foliar. Corte transversal esquemático de um pulvino foliar mostrando a localização das células motoras 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 20 e 30.

mento e conseqüente movimento foliar (Fig. 14.12B). Em folhas compostas de Leguminosae, além do pulvino principal na base do pecíolo, há também pulvínulos ou pulvinos secundários na base dos folí-

olos. 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), se movem 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. 14.13.

A luz seria percebida por fitocromo ou 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

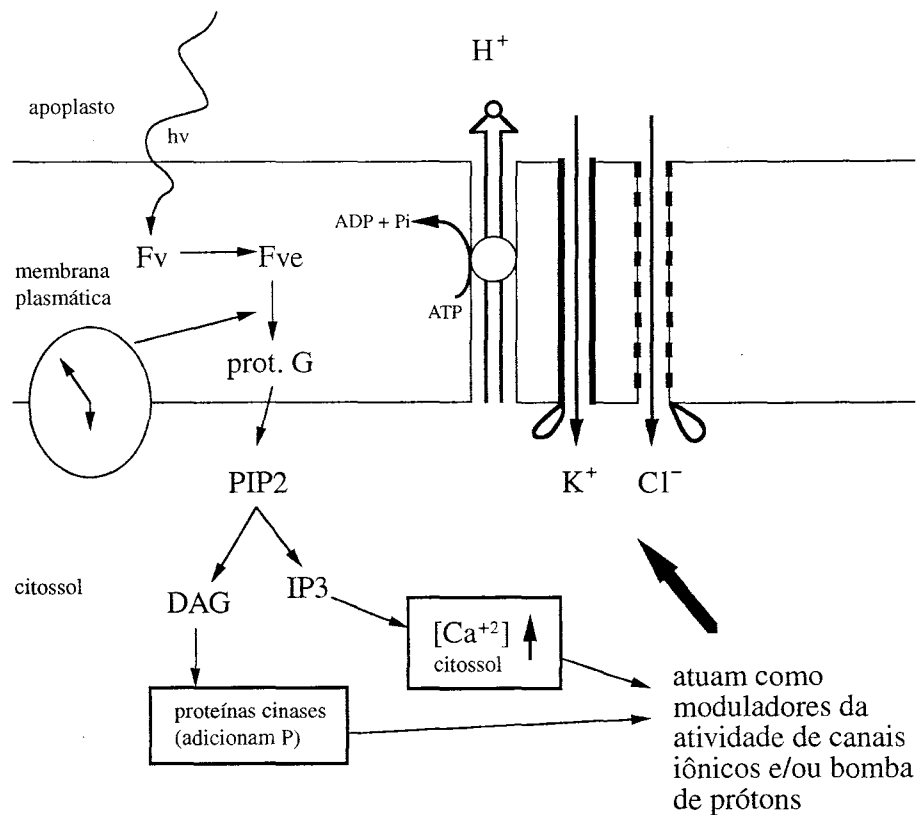


Fig. 14.13 Modelo do mecanismo de movimento nictinástico foliar: ganho de água pelas células motoras dos pulvinos. Sinais luminosos seriam percebidos pelos sistemas de pigmentos fitocromo e/ou criptocromo. O relógio circadiano controlaria a eficiência máxima de percepção de luz pelos sistemas fotorreceptores. 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.

fotorreceptores, controlando quando é ou não permitido perceber a luz com eficiência máxima (ver Cap. 15, 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).

Tigmonastismo

É um movimento nástico em resposta a estímulos mecânicos. Alguns textos também se referem a esse movimento como *sismonastismo*. É bastante evidente em algumas espécies de Leguminosae – Mimosoideae, muitas das quais também apresentam nictinas-

tismo. 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, as 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 tigmomástico 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 plasmodesmos) 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 tigmomástica 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 tigmomástica 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 tigmomástica 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 tigmomásticos, 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 2 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

- 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.
- 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.
- ## BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA
- Briggs WR, Christie JM. Phototropins 1 and 2: versatile plant blue light receptors. *Trends in Plant Science*, 2002; 7:204-210.
- 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.
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. *Biologia Vegetal* (trad.). Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 2001, 928p.
- 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.
- Interessante site da Internet (2003) sobre movimento em plantas: <http://sunflower.bio.indiana.edu/~rhangart/plantsinmotion.html>

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 evidências recentes, 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 eficientemente 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, pode-se citar: movimentos foliares e de pétalas (nictinastismo e termonastismo), fotossíntese, respiração, 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 estudar 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), infradianos (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. Avan-

ços 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. 15.1 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.

COMPONENTES E BASE MOLECULAR DO RELÓGIO CIRCADIANO

O relógio circadiano generalizado compõe-se de três partes: (1) rotas de transdução de sinais ambien-

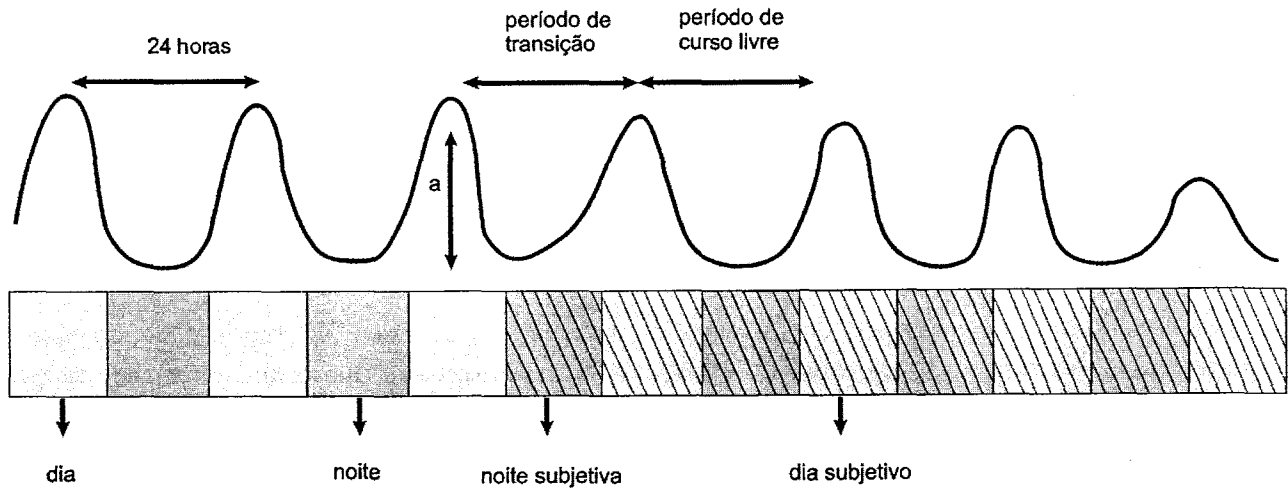


Fig. 15.1 Diagrama de um ritmo circadiano típico. Os picos representam máximos de atividade de um fenômeno circadiano (por exemplo, atividade enzimática), e os vales, mínimos de atividade. Os primeiros dois ciclos de 24 horas correspondem a condições de dia e noite. Os demais ciclos ocorrem em condições 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 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*).

tais (*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. 15.2).

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 15.1 para resumo de suas características).

Por meio das rotas de transdução, os sinais ambientais afetam a transcrição dos genes que constitu-

em 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) ao fator de transcrição PIF3 (do inglês *phytochrome interacting factor*, ou fator de interação com fitocromo) nos promotores (seqüências nucleotídicas regulatórias) de genes que respondem à luz, modulando a transcrição dos RNA-mensageiros destes, e a conseqüente expressão das proteínas (Martínez-García *et al.*, 2000). Em qualquer dos casos, nas suas etapas finais, as rotas de transdução de sinais ambientais parecem afetar a transcrição de genes do gerador de ritmo (Fig. 15.3).

O fitocromo B (PHYB) parece ser crítico na determinação da fase circadiana (período do dia de

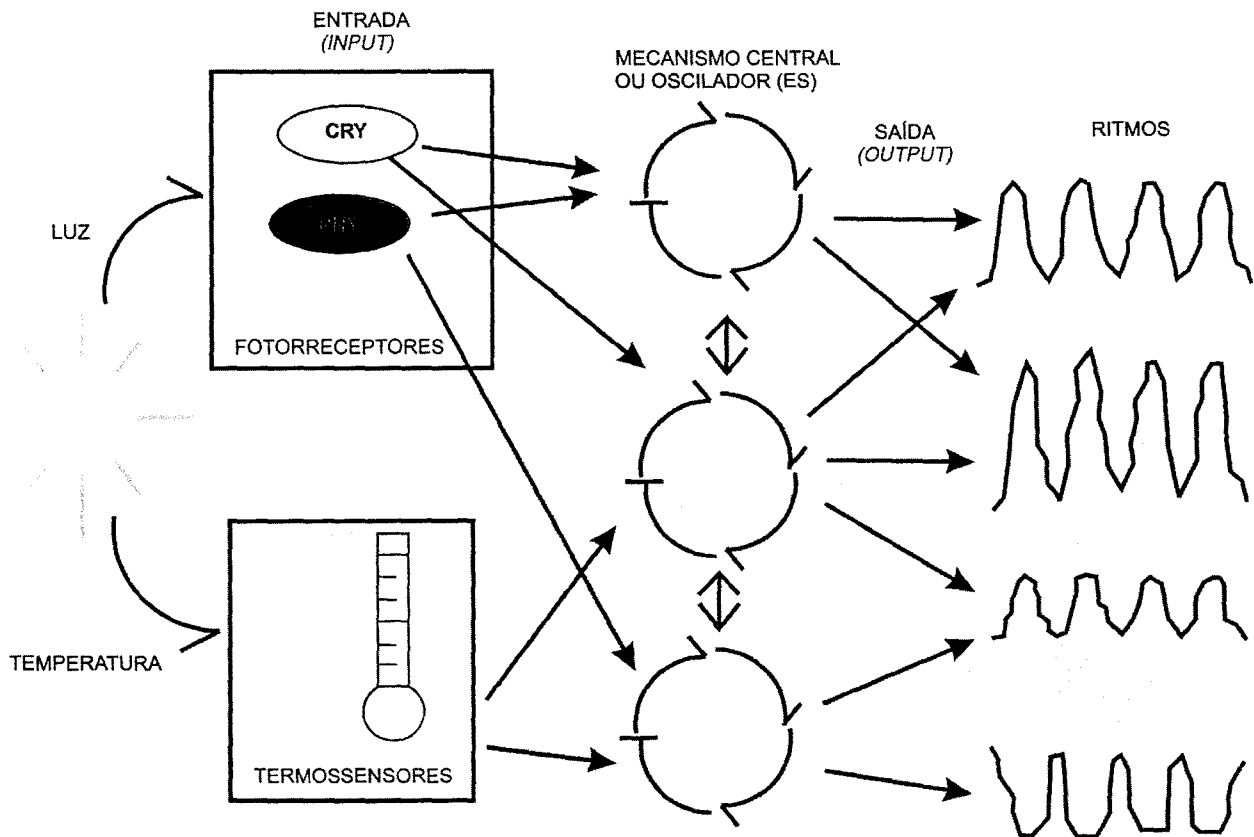


Fig. 15.2 Componentes básicos do relógio circadiano: vias de entrada, mecanismo central e vias de saída. Os sinais sincronizadores principais são luz (percebida pelos fotorreceptores fitocromo e criptocromo) e temperatura. Os receptores sinalizariam ao mecanismo central constituído por proteínas do tipo 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.)

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 aceito para o mecanismo do relógio circadiano é um sistema de retroalimentação (*feedback*) negativa de proteínas capazes

TABELA 15.1 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. 15.3), e a versão considerada ativa é o Fve.
- O mecanismo 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), ativando 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), um complexo protéico que impede a ação de fatores de transcrição positivos de genes responsivos à luz. Mediante ligação com criptocromo, COP é removido do núcleo e degradado, liberando os fatores ativadores (p. ex. HY5) para ligar genes de resposta à luz (Wang *et al.*, 2001).

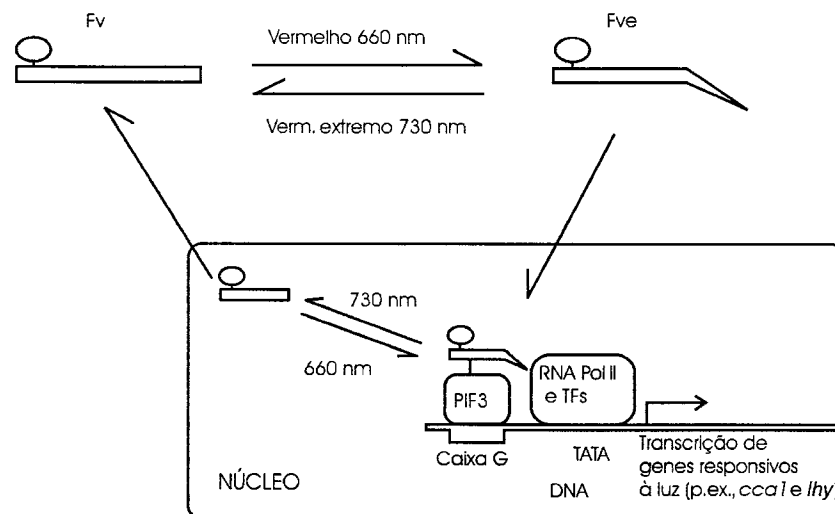


Fig. 15.3 Mecanismo de ação do fitocromo B na ativação da expressão de genes regulados por luz, incluindo prováveis componentes do mecanismo central do relógio circadiano (*cca1* e *lhy*). Molécula extremamente versátil, o fitocromo pode, após assumir configuração ativa por irradiação com luz vermelha, entrar no núcleo da célula e interagir com fatores de transcrição do tipo PIF3, 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 em promotores de genes-alvos. (Baseado em Martínez-García *et al.*, 2000.)

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 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. 15.4 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 transcripcional 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 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

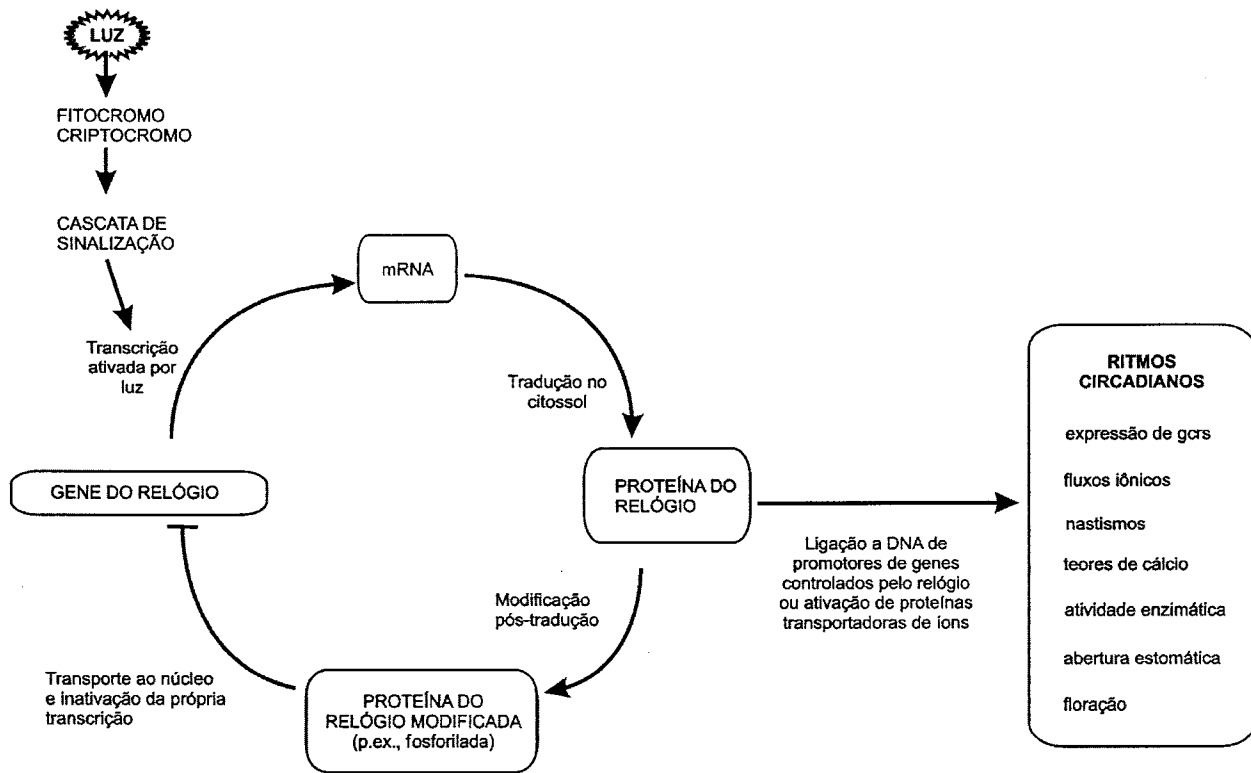


Fig. 15.4 Modelo hipotético de relógio circadiano em plantas. Luz percebida por fotorreceptores (rotas de transdução externas) sincronizaria o mecanismo gerador de ritmo (círculo) ao ambiente, ativando a transcrição do gene do relógio. Após a transcrição, processamento e tradução, formar-se-ia a proteína 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”.

(fitocromo B, criptocromos 1 e 2, fototropina NPH1), 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 (de-

terminaria 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, desenvolvido por Steve A. Kay *et al.* nos EUA. Plantas de *Arabidopsis* foram transformadas com um gene quimera composto do promotor do gene *cab* (proteína ligadora de clorofila a e b do complexo coletor de luz, gene expresso de forma circadiana) fusionado à parte codificante do gene da luciferase, enzima capaz de quebrar luciferina gerando bioluminescência. Populações mutagenizadas de plantas carregando essa quimera foram analisadas para periodicidade de bioluminescência após aplicação de luciferina. Um luminômetro indicava a variação na produção de luz que passou a ocorrer de forma circadiana, pois o promotor da quimera gênica era oriundo de um gene controlado pelo relógio circadiano. O mutante *toc 1-1* apresentava um período mais curto na expressão de *cab*, medido como produção de luz, em relação ao tipo selvagem em condições de curso livre. Análises recentes do mutante *toc 1-1* mostraram que a mutação confere período curto a vários processos circadianos, incluindo expressão de diversos genes, movimento estomático e foliar, além de afetar a sensibilidade da floração ao comprimento do dia (fotoperiodismo, ver adiante). O efeito da mutação nos processos circadianos parece independe da entrada (*input*) de luz ao relógio circadiano, envolvendo uma possível alteração no gerador de ritmo propriamente dito ou em uma proteína que atua sobre ele. A clonagem e seqüenciamento do gene *toc 1* revelou que ele é regulado de forma circadiana, participa de um processo de retroinibição da própria expressão e codifica para uma proteína de localização nuclear dotada de alguns domínios sugestivos de fatores de transcrição (proteínas ligadoras de DNA).

Outros dois genes que parecem estar fortemente associados ao mecanismo do relógio circadiano em *Arabidopsis* são *cca1* (*circadian clock associated* ou associado ao relógio circadiano) e *lhy* (*late elongated hypocotyl* ou hipocótilo de alongamento tardio). Esses genes codificam fatores de transcrição do tipo Myb (membros de uma família de proteínas ligadoras de DNA) e, quando superexpressos, causam arritmia (abolem ritmos) em múltiplos processos circadianos, tais como movimentos foliares e abundância de RNA-mensageiro de todos os genes controlados pelo relógio testados até o momento, além de suprimir a própria expressão. Os genes *cca1* e *lhy* parecem ter funções parcialmente redundantes no mecanismo do relógio.

A demonstração de interações de regulação recíprocas entre *toc 1* e os genes MYB *cca1/lhy* levou à proposta de que essa regulação interativa seria a estrutura básica do mecanismo central do relógio circadiano em *Arabidopsis* (Alabadí *et al.*, 2001) (Fig. 15.5).

Nesse modelo, a luz ativaria a expressão dos genes *lhy* e *cca1* ao amanhecer. É possível que a luz também atue na regulação pós-tradução desses genes. As proteínas CCA1 e possivelmente LHY, por sua vez, como são fatores de transcrição capazes de ligar DNA, ativariam genes com um pico de expressão diurno (p. ex., *cab*) via interação com elementos *cis* (seqüências nucleotídicas) em seus promotores, favorecendo a ação de RNA-polimerase e fatores básicos de transcrição. Ao mesmo tempo, as proteínas CCA1 e LHY teriam um efeito contrário sobre a expressão de *toc 1* e de outros genes com picos de expressão noturnos. Elementos *cis* típicos de genes com picos de expressão pela manhã e outros (com relativamente poucas diferenças de seqüência nucleotídica) característicos de genes com expressão ao anoitecer vêm sendo isolados e caracterizados. Com o passar do dia, haveria progressiva 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, de forma direta (via seus domínios capazes de interagir com

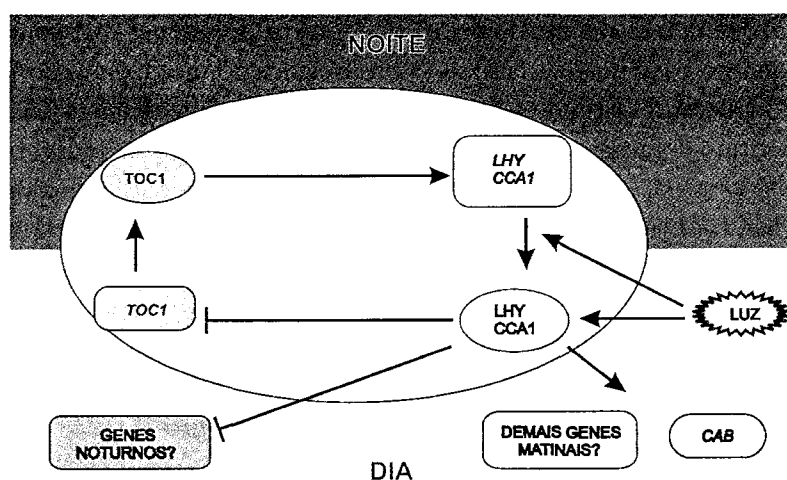


Fig. 15.5 Proposta de estrutura básica do mecanismo central do relógio circadiano de *Arabidopsis*, envolvendo três genes componentes do relógio e suas interações. Setas representam estímulo; barras representam inibição. Siglas envoltas por círculos correspondem a proteínas, siglas em itálico envoltas por retângulos correspondem a genes. A luz ativaria a expressão dos genes *lhy* e *cca1* ao amanhecer. Essas proteínas podem ativar a expressão de *cab* e, talvez, outros genes matinais (com picos de expressão pela manhã), e, simultaneamente, LHY e CCA1 reprimem a expressão de *toc 1* e talvez de outros genes noturnos (com máximos de expressão ao anoitecer e durante a noite). A redução progressiva dos níveis de expressão de *lhy* e *cca1* durante o dia permite que os níveis de mRNA de *toc 1* atinjam níveis máximos perto do fim do dia. A proteína TOC1 parece aumentar a expressão de *lhy* e *cca1*, os quais atingem níveis máximos de expressão ao amanhecer, reiniciando o ciclo. (Baseado em Alabadi *et al.*, 2001.)

DNA em promotores de genes) ou 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.

INTERAÇÃO ENTRE RELÓGIO CIRCADIANO E FOTOPERIODISMO

O controle fotoperiódico da floração é mediado por um ritmo circadiano de sensibilidade à luz (ver também Cap. 16, 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.

Em cevada (*Hordeum vulgare*, cv. Wintex), por exemplo, 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 vermelho extrema do fitocromo). O relógio circadiano controla a eficiência de percepção de luz pela planta, afetando, por conseguinte, a resposta fotoperiódica da floração.

A interação do relógio circadiano com o fotoperiodismo tem sido confirmada com evidências gené-

ticas, 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 – 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 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

- Alabadí D, Oyama T, Yanovsky MJ *et al.* Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science*, 2001; 293: 880-883.
- Cremer F, Coupland G. Distinct photo periodic 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.
- Johnson CH, Knight MR, Kondo T *et al.* Circadian oscillations of cytosolic and chloroplastic free calcium in plants. *Science*, 1995; 269: 1863-1865.
- Martínez-García JF, Huq E, Quail PH. Direct targeting of light signals to a promoter element-bound transcription factor. *Science*, 2000; 288: 859-863.
- 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.
- Dunlap J. An end in the beginning. *Science*, 1998; 280:1548-1549.
- McClung CRM. Circadian rhythms in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001; 52:139-162.
- 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.



Ana Paula Artimonte Vaz, Henrique Pessoa dos Santos e Lilian Beatriz Penteadó 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, 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 sobre a qualidade e a 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 re-

lativamente 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 nas plantas são centralizadas numa única região, o *meristema apical caulinar*. Existem três tipos diferentes de meristemas caulinares: o vegetativo, o floral e o de inflorescência. Os dois últimos são 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.

A transição da fase juvenil para a fase adulta vegetativa é geralmente um processo gradual, podendo ser acompanhada por alterações em algumas características vegetativas, como a morfologia e a disposição (filotaxia) das folhas ou a modificação na capa-

cidade 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 mudanças profundas nos padrões de morfogênese e de diferenciação celular do ápice meristemático caulinar ou das gemas axilares próximas a ele.

As plantas exibem um gradiente espacial de *juvenidade* no eixo caulinar. Enquanto as células e estruturas que caracterizam a fase adulta e reprodutiva se localizam na região superior e periférica do ápice meristemático, os tecidos e órgãos juvenis estão localizados nas regiões inferiores do caule.

A *transição floral* envolve uma seqüência de etapas associadas a mudanças profundas nos padrões de morfogênese e diferenciação celular do ápice meristemático caulinar, apical ou lateral, resultando no meristema reprodutivo, suficientemente apto a produzir *flores* ou *inflorescências*. 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 conseqüência, o meristema caulinar se reestrutura para produzir um primórdio floral, em vez de um primórdio foliar. A indução floral ocorre principalmente nas folhas, podendo também se dar em outros órgãos.

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 fina da época de florescimento, garantindo o sucesso reprodutivo. Relacionadas diretamente a esses proces-

sos, menciona-se a disponibilidade de polinizadores e, a seguir, a dispersão de frutos e sementes (por animais, vento, água etc.) e, finalmente, temperatura, luminosidade e umidade adequadas para a germinação, crescimento e estabelecimento da nova planta (ver Cap. 17, 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 estações do ano, porém ainda não se compreende totalmente como ocorre a percepção e a transdução 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.

Para a floração, as plantas podem apresentar *respostas qualitativas* ou *obrigatórias*, isto é, quando há necessidade absoluta de um ou mais fatores ambientais para que o processo 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 terem como característica não apresentar durante o ano variações substanciais de *temperatura* e *fotoperíodo*, são encontradas plantas suficientemente sensíveis às pequenas mudanças no comprimento relativo do dia, na *irradiância* (quantidade) e *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, e representa 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. 15, Ritmos Circadianos nas Plantas).

Dentre os processos do desenvolvimento vegetal regulados através do 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. Enquanto as plantas que crescem mais próximas ao Equador tendem a florescer e produzir sementes em resposta a dias ligeiramente mais curtos, antes da seca e evitando as temperaturas elevadas do verão, nas espécies de regiões temperadas a floração ocorre principalmente na primavera e verão, de tal modo que a germinação e o crescimento inicial das plantas não ocorrem sob as condições adversas do inverno.

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 flo-

rescem quando mantidas em fotoperíodos inferiores a determinado valor crítico (fotoperíodo crítico), e as *plantas de dias longos* (PDL) ou de noites curtas que têm sua floração promovida quando o comprimento do dia excede certa duração (fotoperíodo crítico), num ciclo de 24 horas (Fig. 16.1). Existem também espécies que não têm a floração regulada através do comprimento dos dias, sendo denominadas plantas neutras, indiferentes ou autônomas (Fig. 16.2).

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 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. Em contrapartida, nos locais de maior latitude, a resposta ao fotoperíodo pode ser mais ampla, como observado na mostarda (*Sinapis alba*).

Experimentos detalhados, modificando-se a duração dos períodos relativos de luz e escuro, assim como a interrupção da noite através de uma exposição curta à luz (tornando ineficiente o período de escuro), ou a interrupção do dia com um período breve 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. 16.1). Para estas últimas, o período mais prolongado de luz pode estar associado à necessidade dos produtos fotossintéticos para continuação dos processos bioquímicos iniciados no escuro.

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.

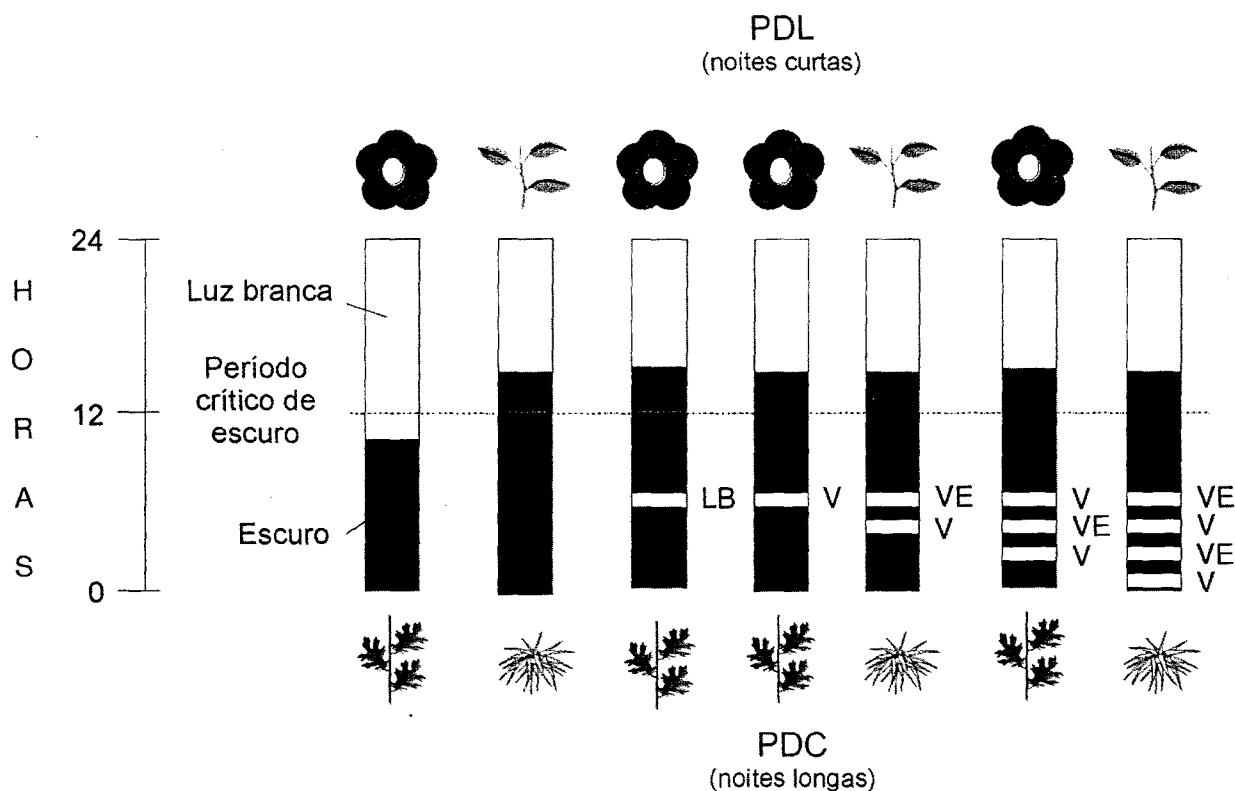


Fig. 16.1 Controle fotoperiódico da floração. Plantas de dias curtos (PDC – noites longas) florescem quando submetidas a períodos de escuro superiores ao valor crítico. Plantas de dias longos (PDL – noites curtas) florescem quando cultivadas sob períodos de escuro inferiores ao valor crítico. A interrupção do período de escuro por um pulso de luz branca (LB) promove a floração nas PDL, enquanto esse processo é inibido nas PDC. 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. 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.

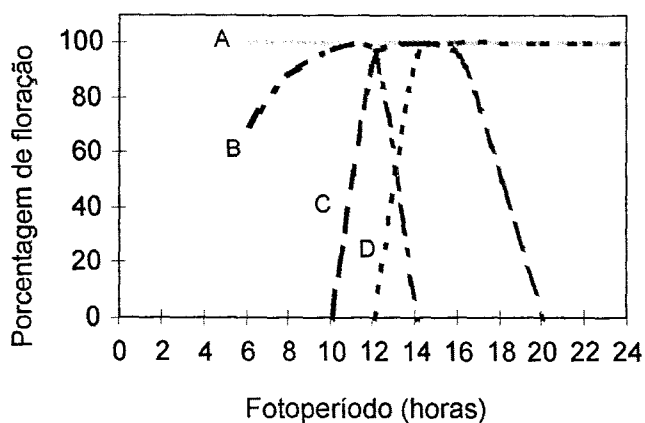


Fig. 16.2 Tipos de respostas de floração. A. Planta indiferente ao fotoperíodo. B. Planta de dia curto qualitativa. C. Planta de dia longo qualitativa. D. Planta de dia intermediário.

Essas respostas morfogênicas nas plantas estão associadas à detecção de cinco regiões do espectro visível, através de, no mínimo, três classes de fotorreceptores, sendo elas: (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 morfogênicas das criptógamas; é constituído por um conjunto de pigmentos ainda não identificados, os quais absorvem a luz na faixa do azul e do ultravioleta-A (entre 320 e 400 nm, ultravioleta longo); e (3) *fitocromo*, cuja absorção ocorre principalmente no comprimento de onda vermelho (660 nm) e vermelho extremo (730 nm).

Os fotorreceptores controlam vários processos morfo-genéticos 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 30 e 40, 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, e o resultado final, inibição ou promoção da germinação, era dependente do último comprimento de onda oferecido às sementes (Tabela 16.1).

A participação do fitocromo na floração foi sugerida por Borthwick e cols., entre os anos de 1945 e 1948. Através de 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 morfo-genéticos, a reversão dos efeitos dos dois tipos

de luz (vermelho, vermelho extremo), sendo que o último tipo de luz fornecida à planta determinava a ocorrência ou não da floração (Fig. 16.1). Na década de 50, 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. 16.3). 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 $Fv \rightleftharpoons Fve$ é reversiva e tem a mesma cinética em ambas as direções. O Fve formado a partir do estímulo luminoso será 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 sua interferência evitada nos experimentos com esses fotorreceptores através do uso de filtros.

Quimicamente, o fitocromo é uma cromoproteína formada por dois polipeptídeos de 120 kDa idênticos, e dois cromóforos ligados ao resíduo de cisteína de cada polipeptídeo 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 presente nas 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. 16.3). Essa mudança estrutural é a responsável pela atividade fisiológica do Fve e pela inatividade do Fv.

Nas PDC, um teor elevado de Fve no início do período noturno é vantajoso para a floração e, em

TABELA 16.1 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

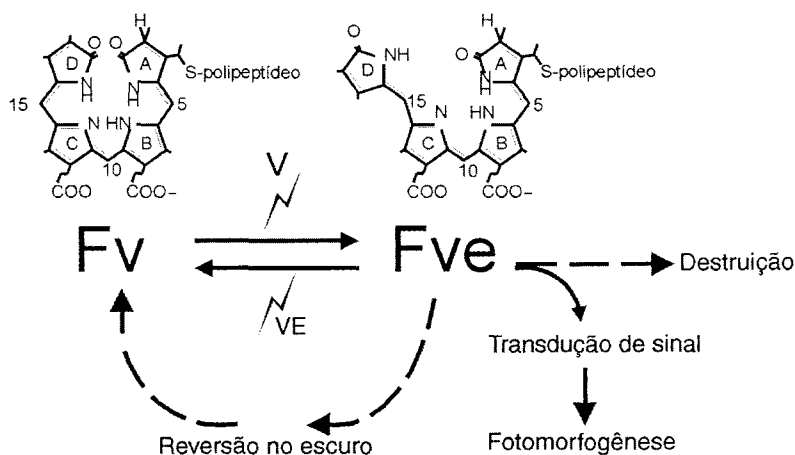


Fig. 16.3 Representação esquemática da fotorreversão entre as duas formas do fitocromo, Fv e Fve, provocada pela presença de luz com comprimento de onda vermelho (V) ou vermelho extremo (VE). As linhas pontilhadas salientam a destruição e reversão no escuro que ocorrem, principalmente, com os fitocromos 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).

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. 16.4). 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.

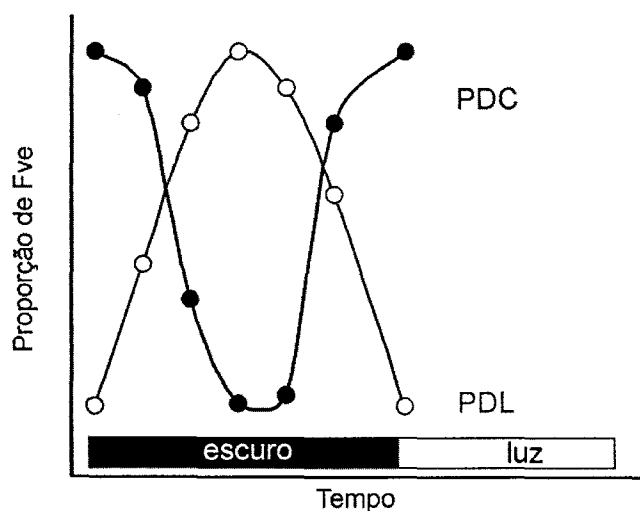


Fig. 16.4 Variações na proporção de fitocromo Fve em plantas de dias longos (PDL) e plantas de dias curtos (PDC). Uma maior proporção de Fve no início do período de escuro é promotora da floração nas PDC.

Em meados da década de 80, 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 predominantemente 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 (Fig. 16.3).

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 é mostrado na Fig. 16.5, o fitocromo é o fator central na cadeia de reação e atua em cooperação com os demais fotorreceptores. Considerando suas propriedades físicas, o fitocromo

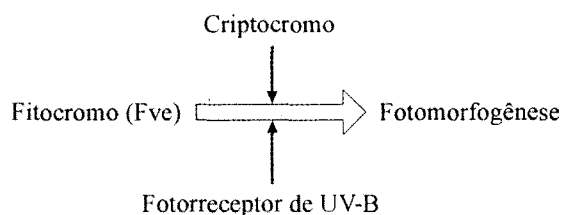


Fig. 16.5 Esquema da ação cooperativa dos fotorreceptores. A luz absorvida pelo criptocromo e pelo fotorreceptor de UV-B atua na sensibilidade da célula ao efeito promovido pelo fitocromo na forma Fve.

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 morfogênicos 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, permi-

tindo, de uma forma ainda não conhecida, a mensuração do comprimento do dia (ver Cap. 15, Ritmos Circadianos nas Plantas). Possivelmente, todas as respostas fotoperiódicas nas plantas utilizam os mesmos fotorreceptores, diferenciando-se, posteriormente, através de 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* largamente utilizados em estudos de Biologia Molecular, 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*, a percepção é feita pelos cotilédones. Em resposta ao estímulo fotoperiódico, as folhas sofrem mudanças metabólicas, resultando na produção independente de sinais bioquímicos transmissíveis, coletivamente denominados de *sinal floral*. O sinal floral seria então transmitido ao meristema caulinar que, quando receptivo (competente), inicia a transição floral (Fig. 16.6). Entretanto, de forma curiosa, em plantas neutras, portanto não sensíveis ao fotoperíodo, as folhas também são fundamentais para a floração, tanto que plantas desfolhadas não são capazes de produzir flores.

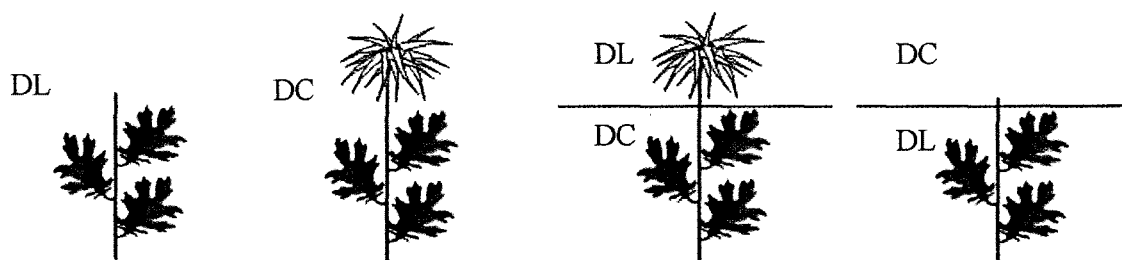


Fig. 16.6 Experimento realizado com *Chrysanthemum morifolium*, uma PDC. O tratamento fotoperiódico de dia longo (DL) ou de dia curto (DC) foi aplicado isoladamente (2 figuras à esquerda) ou simultaneamente (2 figuras à direita) nas folhas e no ápice caulinar vegetativo. Os resultados evidenciam a importância das folhas, mais do que dos ápices vegetativos, na percepção do sinal fotoperiódico. As folhas seriam responsáveis pela produção e transporte do sinal floral ao meristema caulinar.

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, possivelmente através do floema.

A idade e o tamanho 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 fotoperiodicamente parece estar associada à modificação nos teores de citocininas, giberelinas ou nas concentrações de açúcares. Entretanto, na grande maioria das vezes, aplicações hormonais não substituem totalmente o tratamento fotoperiódico na indução floral, assim como, para 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, mas que, até o presente momento, não foram identificadas. Apesar disso, 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 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 denomi-

nado *vernalização* e, muitas vezes, está associado à necessidade posterior de dias longos, como verificado no centeio (*Secale cereale*) e em diversos cultivares de plantas anuais, dentre estas a beterraba, repolho, couve e aipo.

As plantas bianuais são as que necessitam completar dois ciclos de vida antes da floração. Nessas plantas, a germinação ocorre na primavera, seguindo-se o período de crescimento da parte aérea; durante o inverno, as folhas senescem e caem; na primavera seguinte, novas folhas são formadas e, desde que tenha ocorrido a exposição apropriada ao frio, 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 têm demonstrado 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 dependendo da idade e do estado fisiológico da planta. Enquanto algumas espécies respondem à vernalização em estágios precoces do desenvolvimento, ainda na fase de embrião ou no início da germinação, como observado em alguns cereais, outras se tornam sensíveis após adquirirem um tamanho mínimo. Entretanto, as temperaturas mais favoráveis à floração podem resultar em plantas com 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 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 vernali-

zação e, na orquídea *Phalaenopsis*, um aumento nos teores endógenos de citocininas (ver Cap. 9, Citocininas) e açúcares foi associado à diminuição da temperatura. Em outra orquídea tropical, *Dendrobium* sp., modificações na temperatura alteraram também positivamente os teores de citocininas. 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 nas plantas orquídeas, como *Phalaenopsis*, *Cymbidium* e *Dendrobium* (Fig. 16.7), e também em algumas variedades de *Chrysanthemum*, quando satisfeitas suas necessidades de dia curto.

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, a chegada da estação das chuvas coincide com o início da primavera, representado por dias levemente mais longos e temperaturas mais elevadas, configurando sinais ambientais para a retomada do crescimento das plantas.

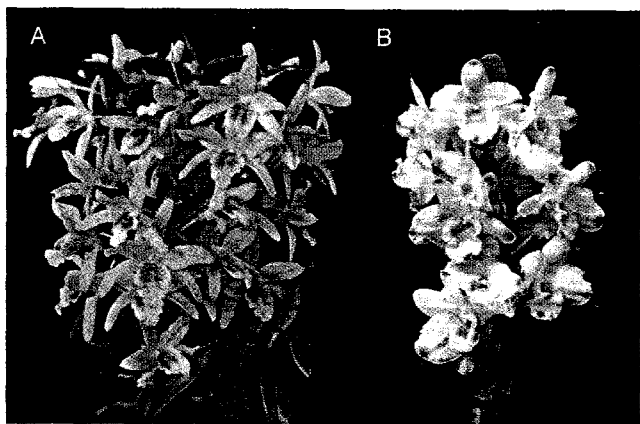


Fig. 16.7 Floração de A. *Dendrobium* Stardust e B. *Dendrobium* Second Love, após tratamento de frio (10°C no período de escuro e 25°C no período luminoso). A quantificação dos hormônios endógenos evidenciou níveis elevados de citocininas durante a indução floral. (Mestrado Kátia O. Campos, Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP, 2000.)

Dentre as plantas comerciais, pode-se destacar como exemplo as gemas florais de café, que necessitam ser submetidas a certo estresse hídrico para se diferenciarem, entrando em dormência e apenas retomando seu desenvolvimento após o fornecimento de água.

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.

Fatores endógenos

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.

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.

NUTRIÇÃO

Os mecanismos de controle da floração através 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 massa seca, 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 cresci-

mento vigoroso. A hipótese de que os processos de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo poderiam ser antagônicos devido à competição pela partição de assimilados é bastante antiga, baseando-se 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 assimilado, 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 sob condições *in vitro*.

A limitação de fósforo 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. De um modo geral, a adubação rica em fósforo favorece a floração.

Plantas de *Sinapis alba* (mostarda) 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.

Um aumento pronunciado no teor de potássio foi observado na orquídea tropical epífita *Psychomorphis pusilla* induzida à floração. Não foram evidenciadas alterações significativas nas concentrações de magnésio durante a indução floral dessa planta.

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 ou 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 a existência de concentrações ótimas de açúcares, as quais deveriam 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 translocada ao meristema durante a transição floral poderia resultar da mobilização de carboidratos de reserva. Em plantas orquídeas, como *Catasetum* e *Oncidium*, o crescimento e a reprodução são eventos dependentes do tamanho e da idade das plantas, estando a floração associada às reservas acumuladas nos pseudobulbos. Entretanto, poucos estudos têm sido realizados sobre a interação entre a floração e o metabolismo do amido.

Porém, uma 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, sobre a indução floral, atuando possivelmente através da 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. 9, Citocininas). Modificações nos teores desses hormônios, através de um aumento na biossíntese ou na taxa de exportação, alterariam seu conteúdo 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 (Fig. 16.8).

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 ve-

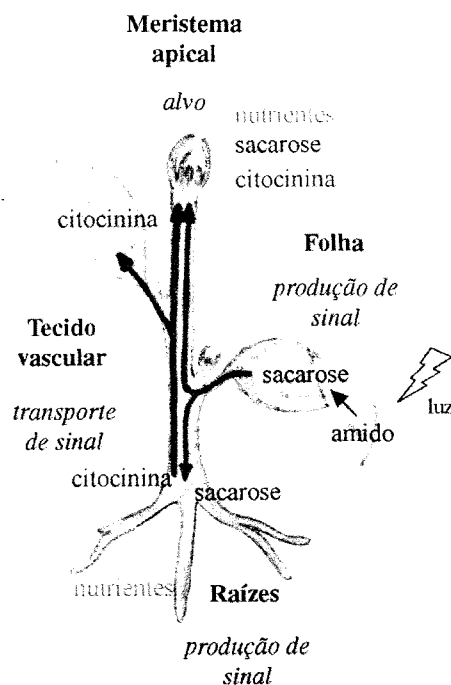


Fig. 16.8 Modelo simplificado de alguns componentes da indução floral. Além de estímulos internos intrínsecos à planta, as folhas são as responsáveis pela percepção do estímulo externo (luz), promovendo a formação e exportação via floema dos sinais florais (por exemplo, sacarose). Os sinais florais produzidos nas folhas podem ser transportados diretamente para o meristema caulinar ou induzir, nas raízes, a produção e 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.

rificado 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 *de per se*, havendo dúvidas, até o momento, 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 através dos 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 na forma de 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 espécies em forma de 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 dependen-

te da espécie, da época de aplicação e do tipo de AG (ver Cap. 10, Giberelinas).

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 madeiras 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*), por exemplo, 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 em relação às respostas florais consistentes com a existên-

cia 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 três modelos objetivando explicar a transição floral. Embora a idéia de que a floração estaria sob o controle de uma substância específica produzida nas folhas tenha sido proposta por Julius von Sachs no final do século XIX, o conceito do *florigeno*, atuando como um hormônio vegetal universal, foi elaborado por Mikhail Chailakhyan em 1936, com base nos seus resultados com experimentos de enxertia. Segundo o autor, a floração de plantas fotoperiodicamente não induzidas e enxertadas com espécies ou gêneros próximos reprodutivos sugeria a transmissão de substâncias ou sinais florais através do floema, após a conexão dos tecidos vegetais. Portanto, o produto final da indução fotoperiódica seria fisiologicamente equivalente nessas plantas.

Chailakhyan também propôs o envolvimento de outra substância transmissível, porém inibitória da floração: o *antiflorígeno*, que interferiria sobre a síntese, transporte e ação do sinal floral. Entretanto, apesar do direcionamento de muitas pesquisas ao isolamento e à identificação do florigeno e do antiflorígeno, nunca se logrou sucesso nesse sentido.

A não-identificação dos hormônios florais resultou na elaboração do segundo modelo, o da hipótese da *diversidade nutricional*, sugerida por Roy Sachs & Hackett, em 1969, e revista 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 morfogenéticos 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, sugerindo que a floração estaria sob um *controle multifatorial*. Fatores químicos promotores e inibitórios, dentre os quais os fotoassimilados e os hormônios conhecidos, ou 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. Independentemente 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 através de 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.

Entretanto, 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. Definir as bases bioquímicas da floração permanece como 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 para o reprodutivo. Tal situa-

ção torna a compreensão da evocação 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. Representando a principal distinção entre as fases juvenil e adulta vegetativa, o meristema caulinar é capaz de florescer quando fornecido um estímulo indutor apropriado; portanto, o meristema é competente à floração. 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 16.2).

Enquanto o 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. 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 *Stevia rebaudiana*, que florescem apenas com 3 e 4 folhas, respectivamente. Mesmo plantas herbáceas, como certas orquídeas epífitas (*Cattleya*, *Laelia*, *Vanda*), podem demandar vários anos de crescimento vegetativo antes de se tornarem competentes à floração.

A evocação 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 aos eventos que ocorrem nas raízes, folhas e caule. Vários estudos associam a transição floral a um au-

mento na taxa respiratória, assim como 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 evocação 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 seria necessária tanto na iniciação quanto na manutenção do desenvolvimento reprodutivo.

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 esse novo programa de desenvolvimento, mesmo na ausência do estímulo indutor inicial (Fig. 16.9). Entretanto, em algumas plantas, como em *Impatiens*, a floração não está associada à determinação exclusiva do meristema caulinar, mas sim à produção constante de um sinal floral nas folhas, sugerindo um controle da floração externo ao meristema caulinar.

Assim, a transição do estágio vegetativo para o floral está associada inicialmente à aquisição de competência das células meristemáticas caulinares. Através da 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 elementos florais.

TABELA 16.2

Duração da fase juvenil em algumas plantas lenhosas

Planta	Duração da Fase Juvenil
Rosa	20-30 dias
Uva	2-4 anos
Maçã	4-8 anos
Laranja	5-8 anos
Sequóia	5-15 anos
Carvalho	25-30 anos

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). Facilmente distinguível do meristema vegetativo, o meristema reprodutivo apresenta tamanho maior, evidencian-

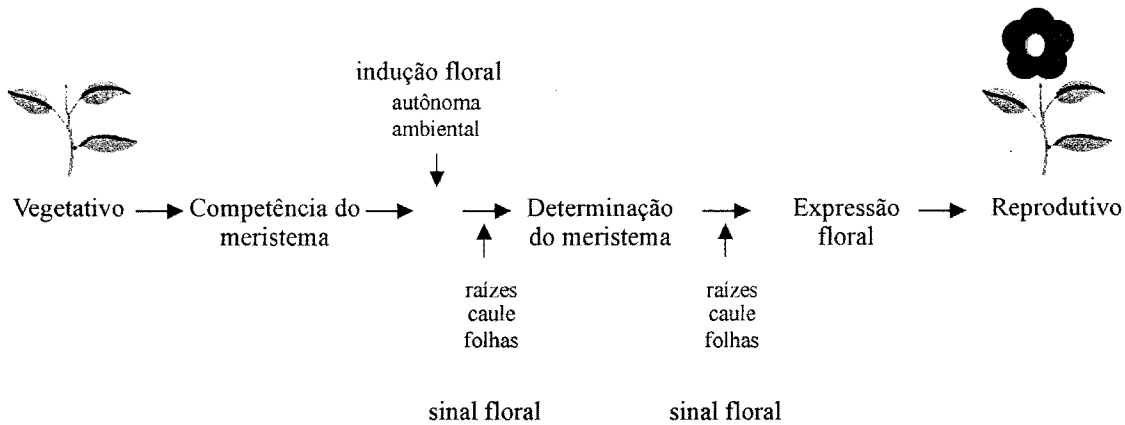


Fig. 16.9 Eventos associados à transição do meristema caulinar vegetativo em meristema floral.

do duas etapas fisiologicamente distintas: a iniciação e o desenvolvimento floral (Fig. 16.10).

A iniciação floral está associada ao aumento da atividade mitótica nos limites da região meristemática das gemas apicais e/ou laterais, 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 mi-

tótica, serão formados os *elementos florais*: sépalas, pétalas, estames e carpelos, representando uma complexa interação entre estruturas funcionalmente especializadas e completamente distintas da planta vegetativa.

A produção dos elementos florais se dá em posição e número precisos, formando os *verticilos*, que são anéis concêntricos ao redor do meristema (Fig. 16.11). Apesar do número quase infinito de variações, a estrutura básica das flores é relativamente simples, constituída, fundamentalmente, de um ramo com nós

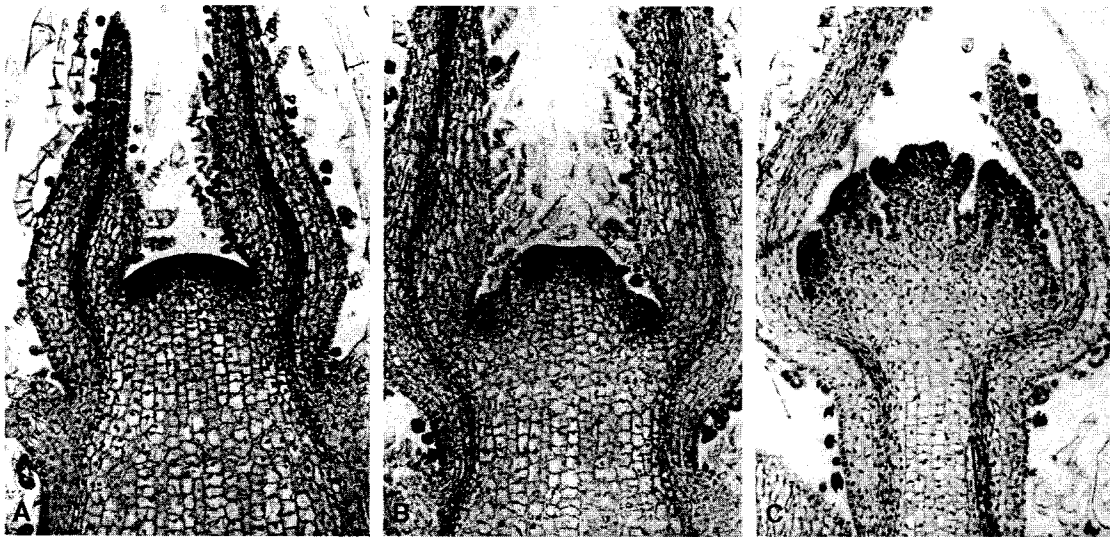


Fig. 16.10 Cortes longitudinais da região apical caulinar de *Hyptis brevipes*. A. Meristema vegetativo, responsável pela formação dos primórdios foliares. B. Meristema reprodutivo em início de desenvolvimento. C. Meristema floral em estágio avançado de desenvolvimento, com a diferenciação dos primórdios de flores distribuídos na periferia do ápice. (Doutorado de Lílian Beatriz Penteado Zaidan, UNICAMP, 1987.)

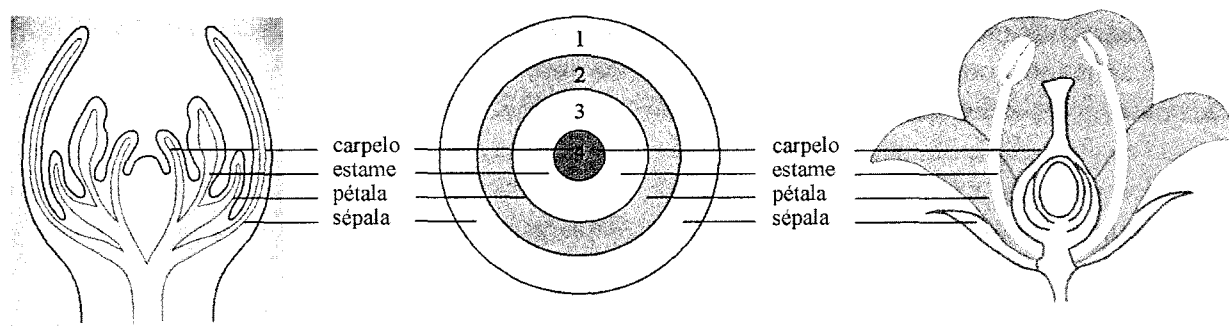


Fig. 16.11 Representação esquemática de uma flor idealizada de Angiosperma. Os órgãos florais são sequencialmente produzidos pelo meristema floral, em verticilos sucessivos, iniciando pelas sépala e progredindo, respectivamente, para as pétalas, estames e carpelos, onde é formada a placenta contendo os óvulos.

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 elemento floral. Em muitas espécies, o meristema vegetativo é primeiramente transformado em um meristema de inflorescência, que pode ser determinado ou indeterminado, e cuja característica é a produção de brácteas com meristemas florais em suas axilas.

ASPECTOS MOLECULARES

A floração de diferentes plantas pode estar sob controle de um mesmo grupo de genes, porém sua expressão 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.

De certa forma, os estudos gênicos realizados até o presente têm sustentado a hipótese multifatorial da floração, ou seja, a floração estaria também sob controle de vários genes. Atualmente são conhecidos cerca de 80 genes envolvidos nos diferentes estágios desse processo, aparentemente organizados de maneira hierárquica, coordenada e sequencial.

A floração envolve a atividade de três grupos de genes: o primeiro deles seria representado pelos genes

da *transição floral*, responsáveis pela mudança de fase do meristema vegetativo em meristema floral, 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 primórdio floral. No terceiro grupo, encontram-se os genes *homeóticos* de identidade dos elementos florais, associados à formação dessas estruturas.

Em *Arabidopsis thaliana*, foram identificadas até o momento quatro vias promotoras da transição floral: por meio do fotoperíodo, da vernalização, das giberelinas ou por regulação autônoma. Também foram identificados genes repressores da floração, fortalecendo a hipótese da existência de inibidores florais.

Os genes repressores da floração inativam os genes responsáveis pela identidade floral do meristema, podendo 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. O gene *emf* (*embryonic flower*) identificado por meio de fenótipos mutantes que floresciam imediatamente após a germinação, representa um mecanismo de controle negativo da floração. Outro repressor da transição da fase vegetativa para a reprodutiva é o gene *flc* (*flowering locus c*) que, quando expresso em quantidade elevada, inibe a floração. O gene *flc* desempenha um papel central na resposta à

vernalização, e os tratamentos de frio diminuem sua transcrição, enquanto o oposto, isto é, uma maior atividade desse gene, é observado através da expressão do gene *fri* (“frígida”). Por sua vez, os genes *ft* e *fwa*, induzidos por fotoperíodo, são repressores da floração (Fig. 16.12).

Antagonicamente ao processo de repressão, o produto de genes autônomos (*fca*, *fpa*, *fve*, *ld* (*luminidependens*)) associados ao estágio de desenvolvimento da planta, ou de genes induzidos por estímulos ambientais, como o fotoperíodo (genes *co* (*constans*) e *gi* (*gigantea*)) e a vernalização (gene *vrn*), pode promover a floração. Esses genes podem atuar inativando um

gene repressor central (gene *flc*), permitindo então a atividade dos genes responsáveis pela identidade floral do meristema, ou agindo diretamente sobre a região promotora destes últimos genes. Portanto, os genes de transição floral regulam a atividade de outros genes, dentre eles o gene de identidade floral do meristema *lfy* (*leafy*), um dos primeiros a ser ativado (Fig. 16.12).

Alguns estudos indicam a necessidade, durante a floração, de um aumento quantitativo na expressão do gene *lfy*, também expresso na fase vegetativa, porém em níveis baixos. Aparentemente, os sinais oriundos das diferentes vias de indução apresentam

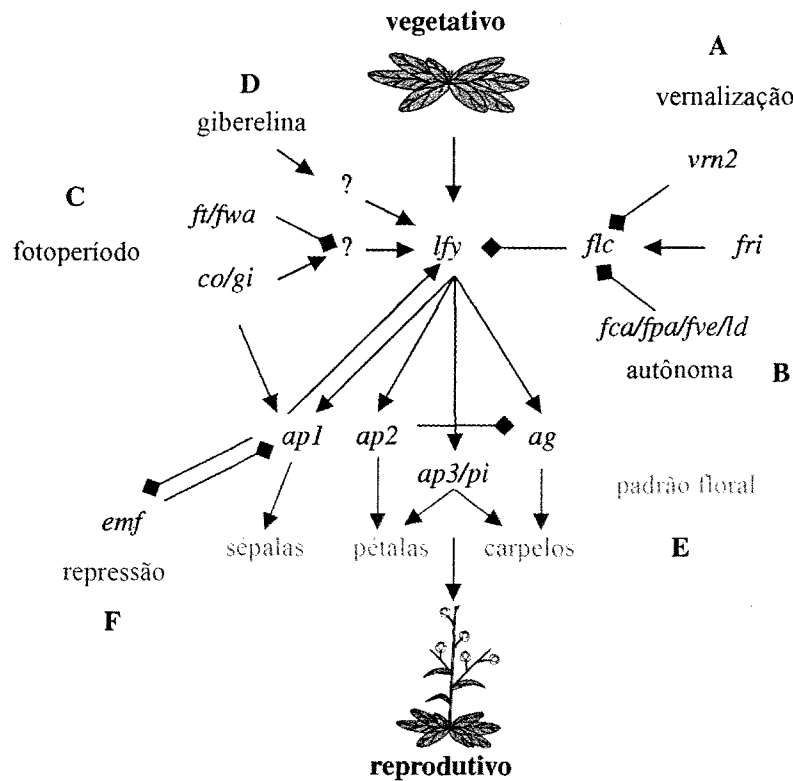


Fig. 16.12 Possíveis interações moleculares envolvidas na floração de *Arabidopsis*, cuja transição floral é controlada por várias vias gênicas. A. O tratamento de frio ativa o gene de vernalização, *vrn2*. B. A via autônoma, através dos genes *fca*, *fpa*, *fve* e *ld*, promove a floração em conjunto com o gene *vrn2*, diminuindo a expressão do gene repressor *flc*. O gene *flc*, por sua vez, tem seu teor de RNAm promovido pelo gene *fri*. C. Dias longos promovem a floração em *Arabidopsis*, sendo a resposta positiva mediada pelos genes *co* e *gi*, e a resposta negativa mediada pelos genes *ft* e *fwa*. D. A giberelina é promotora da floração sob condições de dias curtos, porém não substituindo completamente o tratamento fotoperiódico. E. As vias promotoras da floração podem ter efeitos interativos sobre a atividade dos genes *lfy* e *ap1* que conferem a identidade floral do meristema e regulam a expressão de outros genes homeóticos (*ap2*, *ap3*, *pi* e *ag*). F. O gene *emf* pode inibir a floração, interagindo com os genes de identidade floral do meristema. Repressão \blacklozenge , promoção \rightarrow e genes homeóticos \rightarrow .

efeitos interativos sobre o promotor desse gene, sendo necessários para a sua máxima expressão. Entretanto, somente a superexpressão do gene *lfy* não é suficiente para promover a transição floral em plantas com idade ou submetidas a fotoperíodos inadequados, sugerindo que esses fatores sejam essenciais para determinar a competência do meristema em responder à atividade desse gene.

O gene *lfy* codifica fatores transcricionais, ou seja, proteínas que controlam a expressão de outros genes, as quais atuam sobre o primórdio em desenvolvimento, promovendo a expressão de outro gene de identidade floral do meristema, gene *ap1* (*apetala 1*), cuja expressão é considerada como um bom marcador da ocorrência da floração. O gene *lfy* também pode promover a expressão dos genes de identidade dos elementos florais, dentre estes os genes *ag* (*agamous*), *pi* (*pistillata*) e *ap2* (*apetala 2*) e *ap3* (*apetala 3*) (Fig. 16.12).

As alterações observadas apenas na composição dos verticilos florais, portanto não envolvidas na iniciação floral, estão associadas a mutações em genes homeóticos. A grande maioria desses genes nas plantas pertence à classe de genes MADS box. Os genes homeóticos codificam fatores transcricionais, sendo responsáveis pela ativação completa do programa gênico da estrutura da flor e determinando, em última análise, a formação dos elementos florais propriamente ditos.

Baseados nos estudos com *Arabidopsis thaliana*, esses genes homeóticos foram distribuídos 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, procura interpretar o padrão de formação dos elementos 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. O modelo propõe ainda que as atividades dos genes A e C seriam mutuamente repressoras (Fig. 16.13).

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 elemento floral específico. Entretanto, ainda é desconhecido se o modelo de regulação gênica proposto para a floração de *Arabidopsis* seria aplicável em outras plantas. Poucos genes homólogos foram identificados, como, por exemplo, em *Brassica* e *Sinapis*.

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 melhoramento e dos custos de produções comerciais.

Os eventos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos, assim como os aspectos específicos da floração – indução e a formação da gema adventícia, iniciação do botão floral e o 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 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 *Psychomorchis* (Fig. 16.14). Entretanto, a presença desses hormônios no meio pode afetar negativamente o desenvolvimento das hastes 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, *Boronia* e em explantes de tabaco e

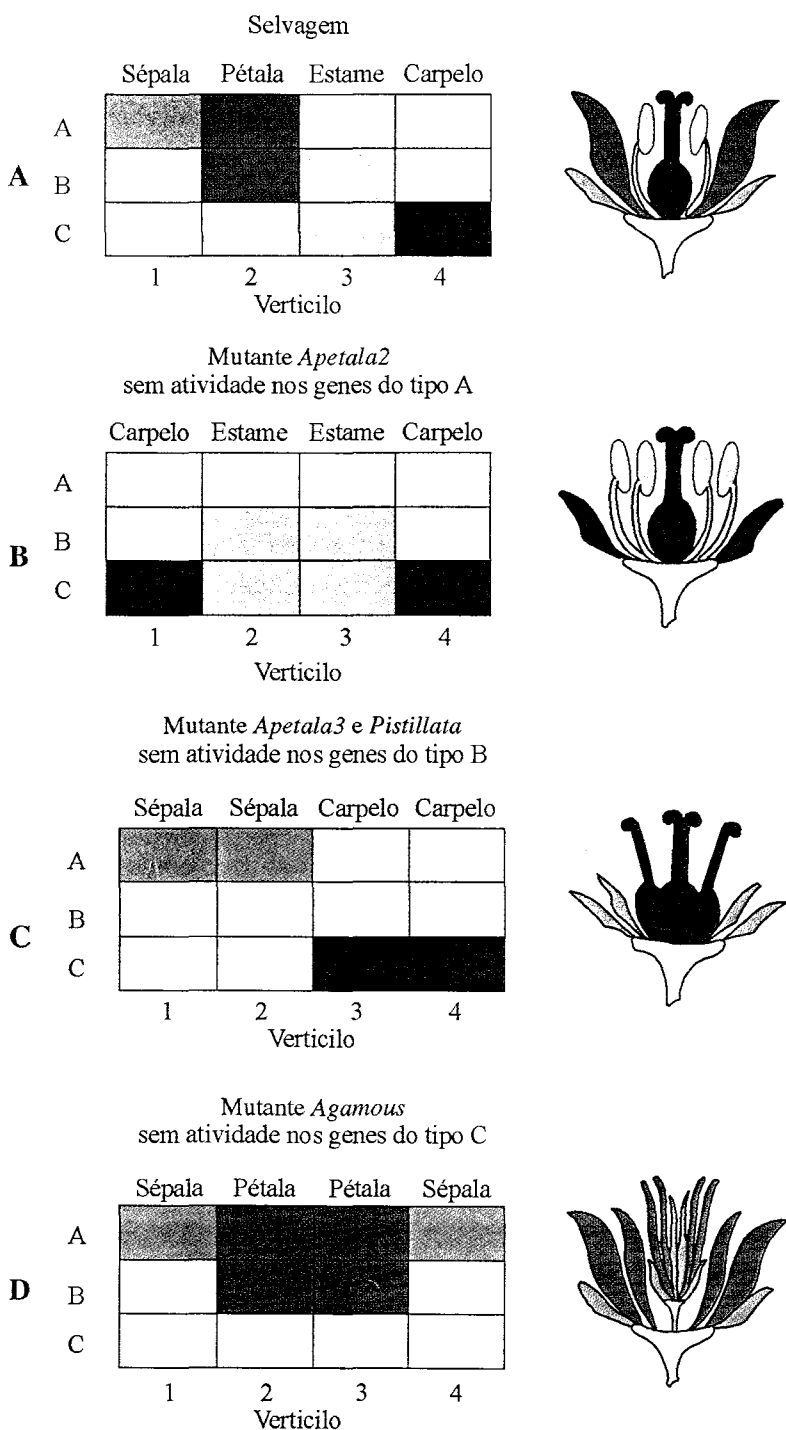


Fig. 16.13 Modelo de atividade dos genes homeóticos ABC, proposto para explicar a formação dos órgãos florais durante o desenvolvimento da flor. A estrutura de uma flor madura de *Arabidopsis* está esquematizada à direita, evidenciando a disposição concêntrica dos órgãos florais em quatro verticilos. A identidade dos órgãos florais é determinada pela atividade de três tipos de genes: A, representada em verde, B, em vermelho; e C, em azul, enquanto a cor amarela representa a atividade conjunta de B e C. A. Nas plantas selvagens, apenas os genes do tipo A estão ativos no primeiro verticilo, resultando na formação das sépalas. As pétalas são diferenciadas no segundo verticilo, através da expressão dos genes do tipo A e B, enquanto a combinação das atividades dos genes B e C no terceiro verticilo forma os estames. No quarto verticilo, a formação dos carpelos é resultante da expressão única dos genes do tipo C. 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. 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.

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 elementos florais (genes homeóticos).

Os resultados obtidos até o momento indicam uma forte 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. Entretanto, 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.

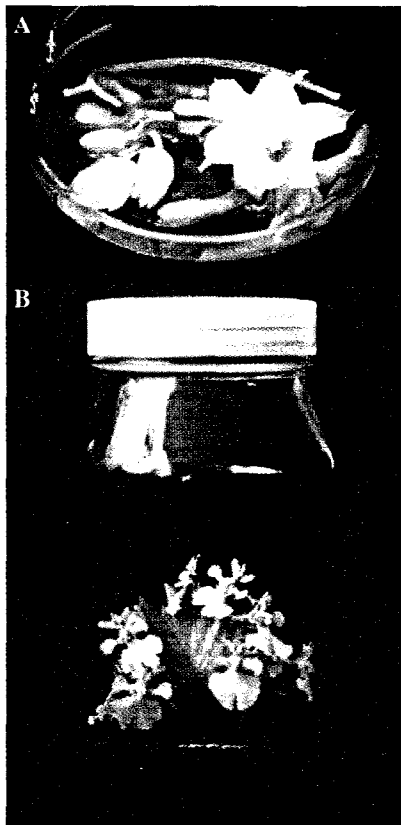


Fig. 16.14 Floração *in vitro* de plantas orquídeas. A. Ápices caulinares com cerca de 1,5 cm de comprimento isolados de plantas ainda jovens de *Dendrobium* Second Love cultivadas em meio de cultura adicionado de Thidiazuron (TDZ), uma citocinina sintética. (Doutorado de Wagner de Melo Ferreira, Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP, 2004.) B. Planta adulta de *Psymorchis pusilla*. (Doutorado de Ana Paula Artimonte Vaz, Laboratório de Fisiologia Vegetal, IB-USP, 2002.)

PERSPECTIVAS NO ESTUDO DA FLORAÇÃO

As informações geradas pelos estudos fisiológicos, bioquímicos e gênicos têm enfatizado a complexidade do processo de floração, controlado por sistemas selecionados ao longo do processo evolutivo nos diferentes grupos de plantas de formas potencialmente independentes.

Um fenômeno tão complexo e preciso como a floração requer a participação de algumas substâncias reguladoras positivas e negativas, conforme observado na grande maioria dos sistemas biológicos.

As falhas no isolamento dos sinais florais podem resultar de vários fatores, dentre os quais a possibilida-

de de a molécula ou moléculas serem extremamente lábeis e possivelmente degradadas durante a extração. Por outro lado, o florígeno, em vez de ser um único hormônio ainda desconhecido, pode representar uma interação complexa entre as várias substâncias reguladoras já identificadas, substanciando a proposta de um controle multifatorial da floração.

Os recentes avanços na aplicação da biologia molecular têm permitido uma melhor compreensão da floração, através 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 representam oportunidades para o isolamento e identificação de genes específicos reguladores da juvenilidade e de genes envolvidos na produção, transporte e sensibilidade ao sinal floral.

A utilização de técnicas modernas de biologia molecular, dentre as quais a clonagem de genes, a análise de *chips* de DNA (*microarrays*) e a imunolocalização de proteínas específicas, tem mostrado a ocorrência de alterações no padrão de expressão gênica em várias regiões do meristema caulinar durante a transição floral. No futuro, as aplicações dessas técnicas nos estudos de floração certamente deverão contribuir para avanços significativos na compreensão desse complexo processo.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Bernier G. The control of flower evocation and morphogenesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1988; 39:175-219.
- 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.

Germinação

Victor José Mendes Cardoso

INTRODUÇÃO

Num sentido amplo, a palavra germinação refere-se ao conjunto de 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, ao crescimento do tubo polínico (grãos de pólen) e do rizóide (esporos de pteridófitas).

A SEMENTE

A semente é o resultado do desenvolvimento de um óvulo fertilizado. 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

Etapas do desenvolvimento

Após a fertilização, o desenvolvimento do embrião de uma Angiosperma é normalmente dividido em três fases: *histodiferenciação* ou *embriogênese*; *maturação*; e *dessecação* (Fig. 17.1).

A histodiferenciação ou embriogênese é marcada por um intenso processo de divisão e diferenciação celular, com a conseqüente formação dos tecidos que irão constituir o embrião e o endosperma. A suspensão da síntese de DNA e da atividade mitótica marca o fim dessa 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. 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.

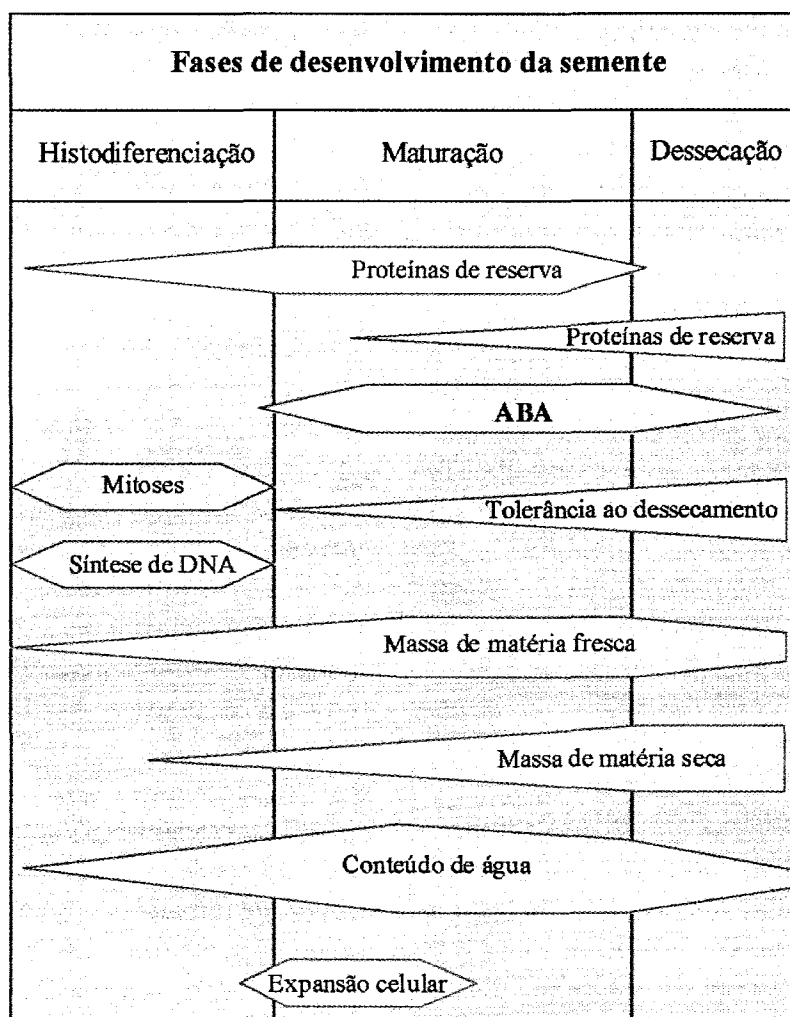


Fig. 17.1 Evolução de alguns eventos citológicos e bioquímicos observados durante as fases de histodiferenciação, maturação e dessecação das sementes. (Modificado de Kermode, 1995, e Bradford, 1994.)

Na fase de dessecação, ao final do período de maturação, ocorrem na semente acentuado aumento na taxa de desidratação e ruptura de suas conexões tróficas com a planta. O metabolismo cai acentuadamente, podendo entretanto persistir no embrião. Ao final da dessecação, a semente em geral atinge o estágio ótimo para colheita e o beneficiamento, bem como para a dispersão.

O desenvolvimento da semente é um evento bastante complexo, cujos múltiplos sistemas de regulação e controle ainda são objetos de investigação. Dependendo de fatores, tanto endógenos como externos, ao final do desenvolvimento tem-se uma semente *quiescente*, ou seja, apta a germinar sob condições favoráveis do meio ambiente, ou uma semente

com *dormência primária* que necessitará de estímulos ambientais específicos para adquirir a capacidade de germinação.

Considerando que, do ponto de vista fisiológico, a capacidade para germinar é muitas vezes adquirida no início da fase de maturação – demonstrada por intermédio de experimentos com embriões isolados cultivados em meio nutritivo –, existem fatores responsáveis pelo controle do desenvolvimento do embrião, impedindo a germinação da semente na planta-mãe. Essa 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*.

Na maioria das sementes, 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. Isso 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 impedem de alguma maneira a germinação.

Desidratação e tolerância à dessecação

Ao final do período de maturação, quando cerca de 90% da água originalmente presente nos tecidos foi removida, os processos de troca energética entre a semente e o meio ambiente são reduzidos a níveis mínimos e praticamente imperceptíveis.

A fase de dessecação, caracterizada pelo declínio relativamente rápido do conteúdo de água, representa 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 secagem rápida, iniciada com a interrupção das conexões vasculares entre a semente e a planta-mãe, normalmente é mais acentuada em frutos secos, mas também pode ser observada em frutos carnosos, nos quais a maturação da semente ocorre num ambiente permanentemente úmido. Nesses casos, a curva de desidratação da semente pode ser menos inclinada, como observado em *Cucumis anguria* (maxixe) (Fig. 17.2). Em várias leguminosas,

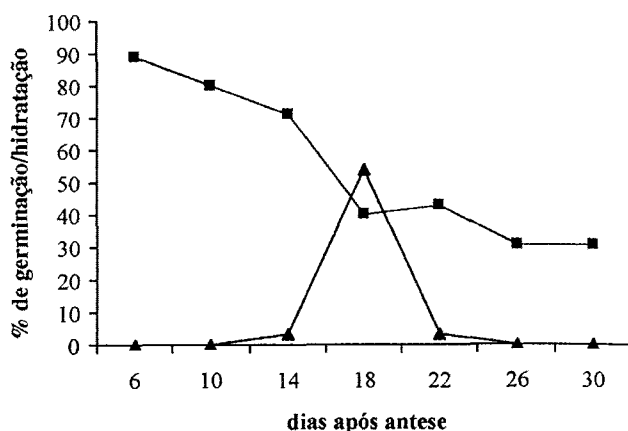


Fig. 17.2 Porcentagens de germinação (▲) e de conteúdo de água (■) de sementes de *Cucumis anguria* coletadas em diferentes períodos após a antese. (Cardoso, 1995.)

ao final da fase de desidratação rápida, a semente atinge o ponto de maturidade para a colheita.

Em nível fisiológico, a fase de dessecação é importante para a semente (particularmente de cereais e de leguminosas) adquirir plena capacidade de suportar níveis baixos de água em seus tecidos, conservando sua germinabilidade (capacidade de germinação). Sementes removidas da planta-mãe e submetidas a secagem antes de completarem seu ciclo de desenvolvimento podem germinar se tiverem atingido a condição de tolerância à dessecação. Entretanto, a taxa de secagem pode afetar a germinabilidade da semente. A aquisição de tolerância à dessecação pelo embrião é normalmente um processo gradual ao longo do desenvolvimento, sendo perdida na fase de germinação.

Algumas proteínas e carboidratos são sintetizados na semente apenas durante as etapas mais tardias do desenvolvimento. Dentre essas proteínas, as denominadas LEA (*Abundantes na Embriogênese Tardia*) podem estar associadas à tolerância do embrião à dessecação, apesar de seu mecanismo de ação ainda não estar definido. Extremamente hidrofílicas e termoestáveis, as proteínas LEA poderiam atuar como sequestradores 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 na semente seca). Entretanto, em *Arabidopsis*, 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 dessas proteínas após a germinação da semente.

Embora a maioria dos genes *LEA* tenham sido identificados em sementes ditas *ortodoxas*, ou seja, tolerantes ao dessecamento, essas proteínas, assim como o hormônio 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* nessas 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 ácido abscísico (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 oligosacarídeos, dentre estes a rafinose e a estaquiase, podem contribuir para a formação do estado vítreo no citoplasma, caracterizado pela alta viscosidade, redução na velocidade das reações químicas e manutenção da compartimentação celular.

Controle do desenvolvimento

Acredita-se que o ABA desempenha um papel fundamental na interrupção do desenvolvimento do

embrião durante a fase de desenvolvimento. Esse hormônio, cujos níveis na semente em geral são elevados durante a maturação, atuaria 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 esse 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. O principal papel desse hormônio seria a inibição da germinação até que a dormência se estabelecesse, ou seja, o ABA não teria uma relação direta com a indução da dormência propriamente dita.

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 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 em hormônio apresentam germinação precoce na planta-mãe (viviparidade). Mutantes de *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana glauca* (fuminho) deficientes em ABA, por sua vez, são incapazes de entrar em dormência.

Além do ABA, o potencial osmótico relativamente baixo (alta osmolaridade) dos tecidos adjacentes ao embrião, impedindo um suprimento adequado de água a este, 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.

Entretanto, como a redução nas concentrações de ABA ocorre ao final do desenvolvimento da semente, junto à fase de desidratação rápida, 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 supressão da germinabilidade parece envolver uma interação entre a concentração de ABA (e/ou de outras substâncias inibidoras), o potencial osmótico do meio circunjacente e a capacidade de resposta do tecido (ver Cap. 11, Ácido Abscísico).

A viviparidade fornece boas evidências sobre o envolvimento do ABA no controle da germinação da semente em desenvolvimento. Nesse 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. Alguns experimentos sugerem que esses embriões, como os de *Rhizophora mangle* (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 do que esse hormônio inibe a germinação precoce de embriões imaturos em meio de cultura.

Evidências também sugerem que, pelo menos para algumas espécies, o mecanismo responsável pela restrição da germinação localiza-se dentro do próprio embrião, com o meio adjacente (o endosperma, por exemplo) favorecendo a síntese de ABA ou fornecendo algum sinal para que o embrião não tenha seu metabolismo comutado para a germinação, condição essa que não deve verificar-se no caso da viviparidade.

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, e essa substância pode estar envolvida na supressão da germinação precoce.

O PROCESSO DE GERMINAÇÃO

Terminologia e critérios

O produto final da fase de desenvolvimento na planta-mãe será uma semente pronta para ser liberada no meio ambiente, porém em estado de quiescência ou dormência. Semente quiescente é aquela capaz de germinar quando exposta a condições adequadas de água, temperatura e composição de gases, variáveis de acordo com a espécie, condições de maturação etc. Já uma semente dormente não germina mesmo num ambiente considerado adequado, necessitando de estímulos ou fatores específicos para que a dormência seja quebrada. A dormência é definida, portanto, como uma condição morfológica e/ou fisiológica de uma semente, restritiva de sua germinação mesmo em presença de condições ambientais favoráveis para que esta ocorra. Por outro lado, a definição de um ambiente “adequado” é arbitrária. Assim, por exemplo, se determinado grupo de sementes for colocado sob uma temperatura abaixo da mínima suficiente para induzir sua germinação, esta não irá ocorrer. Alternativamente, a dormência também pode ser definida como uma característica ou estado da semente que determina as condições exigidas para que ela germine.

A germinação representa “um novo começo” para a semente cujo embrião sofreu uma interrupção em seu crescimento ao final da fase de maturação na planta-mãe. Como é ilustrado na Fig. 17.3, a germinação inicia-se com a entrada de água na semente (embebição), a qual irá desencadear a ativação do metabolismo, culminando com o crescimento do eixo embrionário.

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 gravitropica da radícula ou

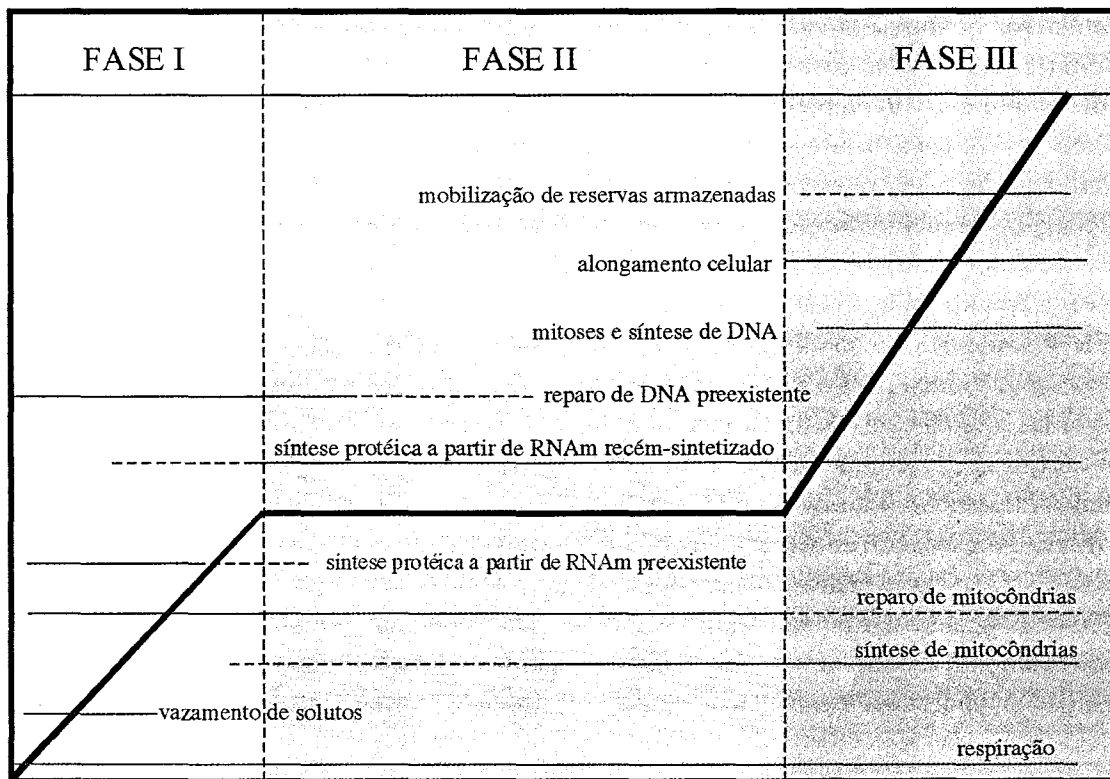


Fig. 17.3 Padrão de variação do conteúdo de água (linha cinza) e principais eventos fisiológicos e metabólicos (linhas vermelhas) associados às diferentes fases da captação de água pela semente durante a germinação. (Modificado de Bewley, 1997.)

1. Respiração; 2. vazamento de solutos; 3. síntese de mitocôndrias; 4. reparo de mitocôndrias; 5. síntese protéica a partir de RNAm preexistente; 6. síntese protéica a partir de RNAm recém-sintetizado; 7. reparo de DNA preexistente; 8. mitoses e síntese de DNA; 9. alongamento celular; e 10. mobilização de reservas armazenadas.

a emergência da plântula através da superfície do solo (critério agrônomo ou tecnológico).

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.

Os valores de Ψ numa semente quiescente são muito variáveis, situando-se entre -50 MPa e -400

MPa, produzindo um 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. 17.3): na fase I, o teor de água na semente aumenta rapidamente, seguido de uma estabilização na fase II, man-

tida 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. 17.4). Essas alterações promovem o vazamento de metabólitos de baixo peso molecular e outros solutos para o meio embebente, sendo essa perda reduzida com o retorno à configuração líquido-cristalina. A pré-umidificação, bem como o aquecimento da semente não hidratada, pode reduzir eventuais danos decorrentes da embebição. Alguns carboidratos (especialmente a sacarose) e fosfolípidios (como 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 são dependentes 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 (ver Cap. 1, Relações Hídricas).

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, por sua vez, não absorvem mais água, uma vez atingida a fase estacionária.

Metabolismo

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. Esse 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 quarta fase,

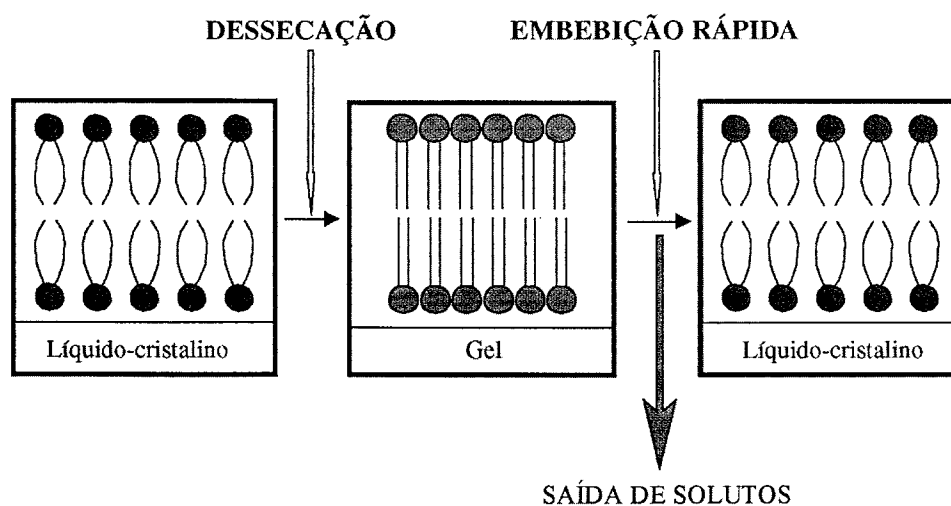


Fig. 17.4 Mudanças de fase das membranas durante a dessecação e a embebição da semente. (Modificado de Oliver *et al.*, 1998.)

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 estaquiose, 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 mais eficiente, tanto estrutural como funcionalmente, poderia ser o responsável pela fase estacionária. O aumento da resistência à difusão de oxigênio através dos envoltórios, como observado em *Brachiaria decumbens* (capim-braquiária) e *B. brizantha* (braquiara), 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 em que a remoção do tegumento implica 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 expressos 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 glicosinatos), Ado-Met sintetase (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 con-

teúdo de DNA, após o início da embebição, deve-se provavelmente ao reparo e reidratação de moléculas preexistentes, bem como à síntese de DNA mitocondrial.

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 nível fisiológico, o final da germinação propriamente dita e o início do crescimento da plântula. Dependendo da espécie, pode haver um período considerável de crescimento intraseminal, antes 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_s) 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 parece ser o principal fator limitante ao início do crescimento do eixo embrionário. Para que a protrusão radicular ocorra em embriões cujo endosperma e o tegumento representam fortes barreiras mecânicas, essas estruturas devem ser modificadas. Uma maior atividade de enzimas, como a endo- β -mananase, β -1,3-glucanase, expansinas, poligalacturonase, quitinase e arabinosidase, pode estar envolvida na hidrólise parcial das paredes celulares do endosperma de sementes de tomate durante a germinação. Entretanto, nem sempre é demonstrada uma correlação entre a atividade da enzima e a indução do crescimento da radícula. A transcrição dessas enzimas ocorre no endosperma e, no caso da poligalacturonase e quitinase, também na extremidade da radícula (Tabela 17.1).

Controle hormonal

Durante a germinação, os hormônios atuam na comunicação entre o eixo embrionário e os tecidos de reserva, intermediando as respostas aos estímulos externos. Um exemplo clássico desse mecanismo é a indução da síntese de α -amilase no endosperma de cevada por intermédio do ácido giberélico produzido no embrião.

Através do uso de linhagens mutantes, assim como da aplicação de hormônios ou seus inibidores, apa-

TABELA 17.1

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 em que Ocorre a Expressão	Hormônio	
		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	—
Arabinosidase	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

rentemente os principais hormônios envolvidos no controle da germinação são o ácido abscísico, as giberelinas (AG) e o etileno.

A incubação de sementes quiescentes em soluções de ABA impede o crescimento da radícula, mesmo quando o tratamento hormonal é realizado no final do processo germinativo, sugerindo sua atuação nos estágios mais tardios da germinação. O ABA parece inibir a reorganização da estrutura das paredes celulares – e, conseqüentemente, sua extensibilidade – nas células envolvidas no crescimento da radícula. Estudos realizados com sementes de *Arabidopsis thaliana* indicam que a aplicação de inibidores da biossíntese de ABA, como a norfluorazona, promove a germinação, ao passo que a manutenção da dormência, mesmo em sementes hidratadas, envolve um processo contínuo de síntese desse hormônio. Entretanto, o papel do ABA endógeno no controle da germinação propriamente dita ainda não está bem definido, sugerindo-se que ele atue restringindo a disponibilidade de metabólitos e energia para o desenvolvimento do embrião.

As giberelinas estimulam a germinação de sementes não-dormentes, agindo após a diminuição nos teores do fator de manutenção da dormência, provavelmente o ABA. A presença de inibidores da biossíntese de giberelinas impede a germinação de várias espécies, assim como esse processo ocorre em mutantes deficientes nesse hormônio apenas quando há aplicação de AG, ou quando o embrião é isolado do restante da semente. O ABA e as AGs 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 (Tabela 17.1) (ver Caps. 10, Giberelinas, e 11, Ácido Abscísico).

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 e o ácido giberélico. Além disso, sementes germinantes com bons índices de vigor podem liberar quantidades relativamente elevadas desse gás, e a quantidade emanada de sementes dormentes tende a ser menor do que a 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 (ver Cap. 12, Etileno). Assim como as AGs, acredita-se que o etileno possa agir estimulando a síntese de enzimas relacionadas à degradação do endosperma, dentre estas a endo- β -mananase em sementes de alface.

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.

A ação dos brassinosteróides 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 AGs. Ácido jasmônico, uma substância isolada de várias partes da planta (incluindo sementes imaturas) inibe a germinação de sementes, mas também pode contribuir para a quebra de dormência, como observado em *Acer* spp. Nesse 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.

FATORES QUE INFLUENCIAM A GERMINAÇÃO

A capacidade (germinabilidade) e a velocidade (vigor) de germinação da semente madura são influenciadas por vários fatores que, em condições naturais, atuam quase sempre em conjunto. Para melhor estudá-los, costuma-se separá-los experimentalmente em diferentes categorias, dentre as quais: fatores extrínsecos ou ambientais (luz, temperatura, potencial da água, fatores químicos, gases e fatores bióticos) e intrínsecos ou internos (morfologia, viabilidade e dormência).

Fatores ambientais

Os fatores ambientais agem tanto durante a fase de maturação da semente como após o desligamento

(dispersão) desta da planta-mãe, influenciando sua germinação.

EFEITOS NA FASE DE MATURAÇÃO

Durante a fase de desenvolvimento da semente, diversos fatores – dentre eles a luz, a água, a temperatura e o estado nutricional – podem influenciar o chamado “efeito materno” sobre a germinação da semente madura.

Sementes de *Cucumis anguria* obtidas de frutos amadurecidos na planta sob condições de dias curtos germinam mais rapidamente em comparação aos tratamentos de dias longos (Fig. 17.5). 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 horas promove a germinação em comparação a fotoperíodo de 20 horas, persistindo o efeito 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 a 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), vermelho extremo (VE) e azul. Esse pigmento é encontrado na forma *Fv*, considerada inativa do ponto de vista fisiológico e cujo pico de absorção de luz situa-se na faixa da luz vermelha (ao redor de 660 nm), e na forma *Fve*, ativa, com absorção máxima na luz com comprimento de onda vermelho extremo (ao redor de 730 nm). Comprimentos de onda ricos em VE tendem a inibir a germinação, devido à fotoconversão do *Fve* para a forma *Fv*, inativa. A luz filtrada pelo dossel (com baixa razão V/VE) reduz o *fotoequilíbrio* ou *estado fotoestacionário* do fitocromo (*Fve*:fitocromo total), inibindo assim a germinação de sementes expostas a essas condições. Do mesmo modo, a ação da cober-

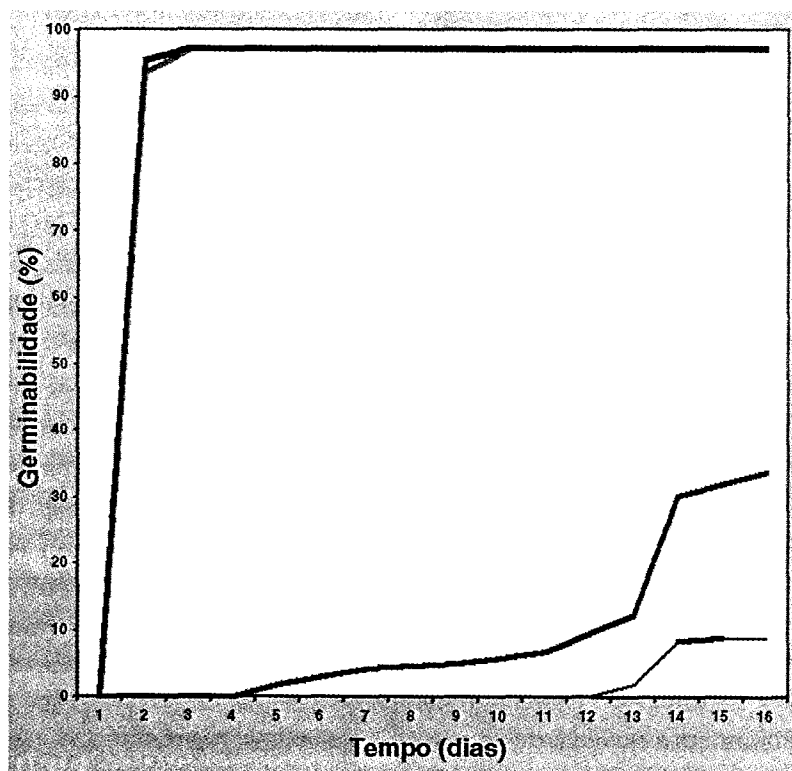


Fig. 17.5 Germinação sob luz branca e no escuro de sementes de *Cucumis anguria* provenientes de frutos amadurecidos em condições de dias curtos (DC, 8 horas) e dias longos (DL, 16 horas).

tura vegetal e dos tecidos que envolvem a semente, durante sua maturação na planta-mãe, pode fazer com que o fotoequíbrio 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 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 germinabilidade 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.

Temperaturas mais elevadas durante a fase de desenvolvimento da semente na planta-mãe podem promover um aumento na capacidade de germinação, como em *Amaranthus retroflexus* (caruru), ou induzir, dependendo da espécie, a dormência.

Quanto à nutrição mineral, em geral a adição de nutrientes minerais (particularmente o nitrogênio) à planta-mãe resulta em uma progênie com menor grau de dormência; todavia, existem relativamente poucos trabalhos tratando desse efeito.

EFEITOS NA FASE DE PÓS-DISPERSÃO

Luz

Considerando a importância da luz no desenvolvimento da planta, esse é o sinal do ambiente controlador do processo germinativo em muitas espécies.

A participação da luz pode ocorrer tanto na indução ou quebra da dormência quanto na germinação propriamente dita. 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 temperados e subtropicais da América do Sul, são produzidas no verão e outono e permanecem dormentes quando deixadas sobre a superfície ou enterradas, mas adqui-

rem 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 irradiações muito baixas, provavelmente numa reação mediada pelo fitocromo A. Por outro lado, 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 (como o feijão e a maioria das hortaliças); sementes que apresentam maior germinabilidade e/ou velocidade de germinação em luz do que em escuro, tais como *Cecropia glaziovii* (embaúba), *Plantago tomentosa* (tanchagem) e *Hyptis suaveolens*; e sementes que germinam melhor em escuro do que em luz, como *Cucumis anguria* (maxixe), *Catharanthus roseus* e *Ricinus communis* (mamona). A resposta da semente à luz não é um caractere 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 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}$ inibem a germinação.

Existem dois tipos principais de fitocromo cujas proteínas são codificadas por genes distintos: o fitocromo A e o fitocromo B. As respostas dos tipos RBF e RFMB são mediadas, respectivamente, pelos fitocromos B e A, mas não se sabe ainda qual fitocromo controla a RAI. 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 meio ambiente e da própria semente “filtram” a luz que atinge o embrião, alterando a intensidade luminosa e a proporção dos comprimentos de onda percebidos pelo fitocromo, conforme ilustrado na Fig. 17.6. 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) pode modificar a proporção de vermelho e vermelho extremo, além, é claro, de reduzir a intensidade luminosa 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 considerada pioneiras (Tabela 17.2). Nesses casos, a luz pode atuar como um sinal que permite à semente detectar a pre-

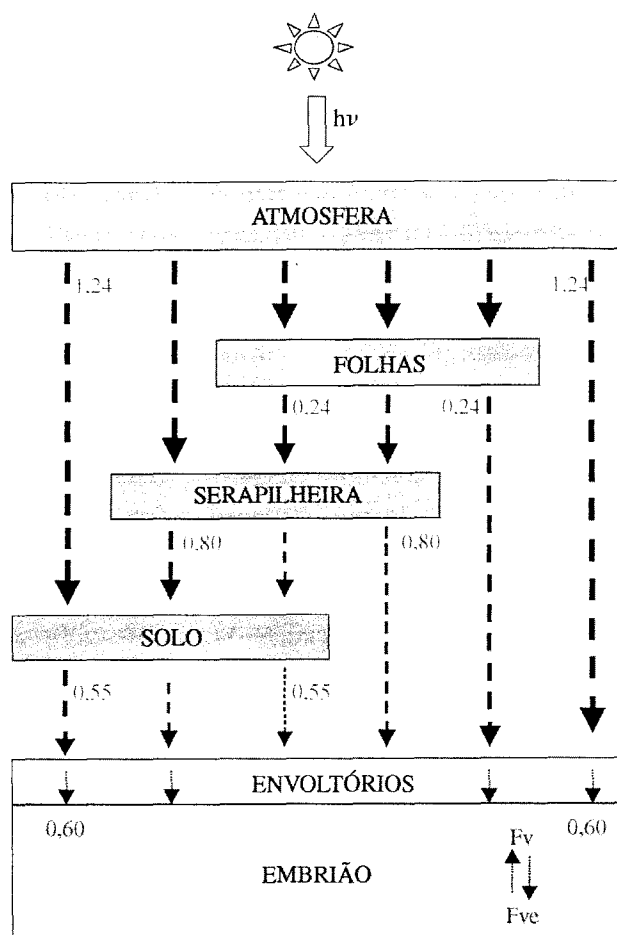


Fig. 17.6 Esquema simplificado dos principais “filtros” naturais da luz que atinge o embrião. Os números em vermelho representam valores da razão V/VE antes e depois de alguns “filtros”, e a espessura das setas indica a intensidade luminosa relativa.

sença de clareiras ou aberturas no dossel, como no caso da embaúba.

Temperatura

O gradiente e as flutuações térmicas aos 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.

Na dormência, o efeito da temperatura é exemplificado pela estratificação, ou seja, exposição da semente hidratada a um período de frio (ao redor de 5°C) com duração variável, dependendo da espécie.

TABELA 17.2 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 gracillanum</i>	Não germinou	Muito baixa	Não germinou**	Não germinou

*Regime de temperatura alternante 20-30°C.

**Iluminação rica em VE (baixa razão V/VE).

Essa forma de quebra de dormência é bastante comum em espécies de climas temperados, caracterizados por estações bem definidas e inverno frio, cujas sementes são dispersas no outono. Entre as espécies que ocorrem no Brasil, a estratificação é requerida por sementes de *Ilex paraguariensis* (erva-mate), comum no sul do país. Para sementes dispersas na primavera, a dormência pode ser revertida pelo tratamento com temperaturas elevadas (semelhantes àquelas às quais as sementes são expostas no verão), o que é chamado de *estraficação a quente*. Temperaturas altas também podem quebrar a dormência em sementes de 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.

A germinação de uma semente não-dormente, por sua vez, é balizada pelas chamadas *temperaturas cardiais*, ou seja, as temperaturas máxima (T_M), mínima (T_m) e ótima (T_{ot}). As temperaturas mínima e máxima são, respectivamente, a menor e a maior temperatura cuja germinação é estatisticamente diferente de zero. 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 e velocidade de germinação (Fig. 17.7).

Em algumas situações, a germinabilidade e a velocidade exibem temperaturas ótimas não-coincidentes ou completamente separadas, como verificada em *Salvia hispanica*. Em *Catharanthus roseus* (vinca), entretanto, a velocidade ótima inclui-se dentro da faixa de germinabilidade máxima.

A definição de um intervalo ótimo de germinação pressupõe a existência de valores infra-ótimos crescentes – entre T_m e T_{ot} – e supra-ótimos decrescentes

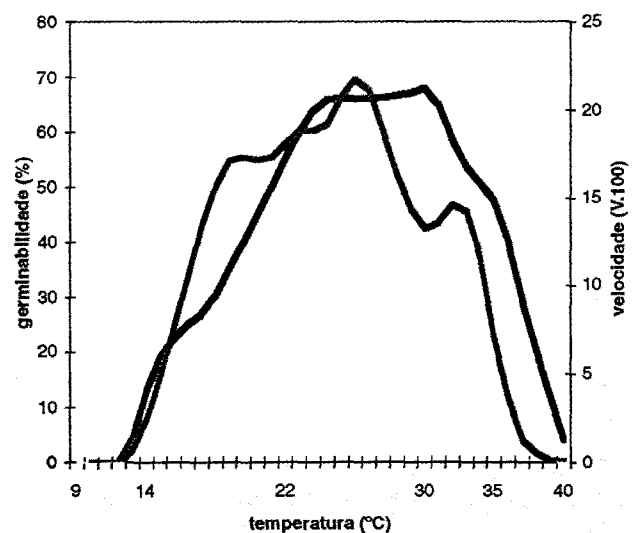


Fig. 17.7 Efeitos de diferentes temperaturas constantes na germinabilidade (o-o) e velocidade (□-□) de germinação de sementes de *Catharanthus roseus*. A faixa térmica de 22°C a 27°C foi considerada ótima para a germinação dessas sementes. (Cardoso, 1999.)

– entre T_{ot} e T_M –, nos quais as velocidades muitas vezes apresentam-se distribuídas linearmente. Essa característica permite que a relação entre germinação e temperatura possa ser analisada segundo modelos que buscam descrever o crescimento do embrião em diferentes situações térmicas.

Modelos como os de coeficiente Q_{10} , entalpia de ativação (Labouriau, 1970) e graus-dia (Bradford, 1995) trabalham com temperaturas constantes. Em geral, sob condições naturais, a semente está exposta a um ambiente no qual a temperatura exibe uma variação cíclica. Essa flutuação tem sido considerada, juntamente com a luz, um importante fator ecológico para a percepção do micro-ambiente 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 ela tende a diminuir com o aumento da profundidade. Em laboratório, uma simulação das condições naturais pode ser feita através de experimentos com temperaturas alternantes, em que 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.

Potencial da água

A água é o principal fator para o início da germinação, já que a semente deve atingir determinado conteúdo de água para poder germinar. 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.

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 da semente (Ψ_{sem}) e a uma redução do potencial hídri-

co do solo nas imediações da semente. O aumento do metabolismo e, conseqüentemente, da concentração de substâncias osmoticamente ativas tende a reduzir Ψ_{sem} . Além disso, processos de drenagem da água e de evaporação também contribuem para as alterações nos gradientes de potencial de água 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.

Em condições de salinidade relativamente elevada, o potencial osmótico do solo passa a desempenhar um papel relevante nas relações hídricas da semente, sendo a germinação em algumas halófitas (como *Spergularia marina*), estimulada pelo NaCl.

A dependência da germinação em relação ao potencial da água (ψ) é similar ao efeito da redução da temperatura na faixa infra-ótima. Portanto, assim como a temperatura, a diminuição do ψ resulta em menores índices de germinação, até um valor mínimo (ou base) de ψ .

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 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. A eficiência do tratamento depende do potencial da água, da temperatura, da duração do tratamento e da disponibilidade de oxigênio, este último possivelmente associado a um aumento na concentração de ATP no embrião.

Embora o osmocondicionamento venha sendo empregado rotineiramente, sobretudo em sementes de hortaliças, suas bases fisiológicas ainda não estão bem definidas. Alguns trabalhos sugerem que o efeito envolva a síntese de proteínas e ácidos nucleicos, bem como a síntese e reparo de membranas, otimi-

zando a retomada do metabolismo na semente germinante.

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 se apresentarem relativamente supridas de íons, sua dependência de minerais para a germinação não chega a ser muito grande, dependendo, obviamente, do conteúdo de reservas na semente madura. Uma exceção pode ser feita ao nitrato, que, além de ser largamente usado como promotor da germinação em inúmeras espécies, parece atuar, juntamente com a luz e a temperatura, como um sinal do microambiente onde a semente está situada. 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 *Brachiaria brizantha* – uma gramínea de origem africana extensivamente usada como forrageira no Brasil – e *Panicum maximum* (capim-colonião). 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.

Quando em excesso, os íons 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) atuam inibindo a germinação, embora outras possam promovê-la, 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 o uso de um pH na faixa de 6,0 a 7,5 – o que pode ser conseguido através do uso de tampões no meio.

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) a cobertura vegetal viva modifica a qualidade e quantidade de luz; (b) substâncias alelopáticas são liberadas por material vegetal no solo; (c) raízes removem água e íons da rizosfera, reduzindo seu potencial químico; (d) fungos presentes no solo liberam substâncias voláteis (como o octiltiocianato), que podem estimular a germinação; (e) animais revolvem

o solo, enterrando ou expondo as sementes à luz; (f) insetos e microorganismos modificam as propriedades dos tegumentos e envoltórios da semente, reduzindo sua resistência ao desenvolvimento da radícula; (g) larvas de insetos penetram na semente, podendo causar danos ao tegumento e/ou ao embrião, neste último caso inviabilizando a semente; (h) formigas transportam frutos e sementes – como a mamona e a copaíba (*Copaifera langsdorffii*) – para seus ninhos, onde as condições podem ser mais propícias à germinação e/ou conservação da semente; (i) sementes podem ser ingeridas e passar pelo trato digestivo de aves ou mamíferos, que, além de atuarem como agentes dispersores, podem favorecer a germinação, como no caso da ingestão de sementes de *Cecropia hololeuca* pelo mico-leão dourado; (j) a remoção do arilo (excrecência que se forma sobre a superfície do tegumento de algumas sementes) por formigas promove a germinação de sementes, como em *Calathea* sp. (Marantaceae); (k) microorganismos do solo, como *Azotobacter chroococcum*, podem inibir a germinação de sementes.

Interações entre sementes e fatores bióticos podem ser bastante complexas, como no caso de orquídeas e micorrizas. Nesse caso, a semente não apresenta praticamente nenhuma substância de reserva, e sua germinação é dependente da associação da semente com o fungo micorrízico. Tendo penetrado na semente ou no protocormo, 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. Destruindo o fungo, a planta obtém esses 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. Em *Bidens pilosa* (picão-preto), a disposição do aquênio no capítulo produz um dimorfismo morfológico e fisiológico no fruto, enquanto, em *Commelina virginica* (trapoeraba), as flores aéreas e subterrâneas (cleistogâmicas) produzem sementes com comportamentos germinativos diferentes.

Fatores intrínsecos

Morfologia

São inúmeras as pesquisas que tratam da relação entre os aspectos morfológicos da semente – especialmente aqueles relacionados ao tegumento e ao tamanho – e seu desempenho germinativo. A presença de estruturas como o estrofiolo (ou lente) no tegumento pode funcionar como um sítio de controle da entrada de água no interior da semente. 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 em que a germinação de sementes pequenas tende a ser maior (exemplo, *Rumex crispus*); e espécies em que a capacidade de germinação é independente do tamanho da semente (como o milho). Em algumas espécies de sementes grandes, um alto 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 a 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 dessecação 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 se comportarem de um modo relativamente previsível durante o armazenamento, apresentando maior longevidade quando armazenadas em ambientes com baixa temperatura e umidade. 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 pertencentes ao segundo grupo 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. Provavelmente, essa mobilização precoce de metabólitos e a ativação da maquinaria metabólica provoquem 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 17.3). Tem-se observado também que espécies recalci-

TABELA 17.3 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	

trantes 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 a 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 se enquadram nos padrões “recalcitrante” e “ortodoxo” característicos, verificando-se a existência de comportamentos intermediários, cujas respostas dependem da sensibilidade ao dessecamento, resposta à armazenagem “úmida” e tolerância ao resfriamento. Existem, por exemplo, sementes que toleram desidratação (-90 a -250 MPa), mas se tornam sensíveis ao frio nessas condições.

No nível celular, 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 detoxificação. Em sementes como girassol e arroz, por exemplo, observa-se uma redução na atividade da enzima transferase do glutation, que catalisa a conjugação do glutation 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 ambiente 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 – pode 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 se estabiliza num patamar suficientemente baixo.

Além dos testes de germinação, os indicadores mais utilizados da perda de viabilidade de sementes são: re-

dução 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 destes, outros parâmetros têm sido usados, tais como: aumento na síntese de etano, que é um indicador da peroxidação de lipídios; redução da atividade β -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 clássico de dormência, mencionado anteriormente (item Germinação), sugere a presença de algum tipo de bloqueio interno à germinação, ao contrário da quiescência, que é provocada pela ausência ou insuficiência de um ou mais fatores externos, necessários à germinação. Esse bloqueio pode ser causado por uma alteração – induzida por fatores ambientais e/ou maternos – das condições exigidas para que a germinação ocorra. A dormência seria, portanto, expressa pela faixa de sensibilidade da semente a determinados fatores ou conjunto de fatores ambientais. Estudos da dependência térmica da germinação, por exemplo, têm mostrado que sementes com elevada dormência germinam numa faixa térmica mais estreita do que o fazem sementes com baixa dormência ou não-dormentes. Esse modelo permite uma separação conceitual entre os processos de quebra de dormência e estimulação da germinação.

A dormência é geralmente classificada como: (a) primária ou inata, quando já se encontra instalada na semente ao final da maturação, ainda na planta-mãe; e (b) secundária ou induzida, quando ocorre em sementes maduras, instalando-se após o desligamento da semente da planta-mãe. A dormência secundária em geral surge quando a semente encontra uma situação de estresse ambiental, como, por exemplo, baixos níveis de oxigênio, temperaturas extremas, baixos potenciais hídricos, teores elevados de CO_2 ou luz rica em vermelho extremo. Assim, uma semente qui-

escente pode se tornar dormente, e vice-versa, dependendo, respectivamente, de fatores ambientais de indução e “quebra” de dormência (Fig. 17.8).

Quanto aos tipos, a dormência pode ser classificada como: (a) *embrionária ou endógena*, quando os fatores de restrição da germinação estão associados ao próprio embrião, podendo envolver o desenvolvimento incompleto deste (dormência morfológica) ou a presença de inibidores, como o ABA e a cumarina (dormência fisiológica); e (b) *extra-embrionária ou exógena*, quando associada aos tecidos adjacentes ao embrião ou à semente (endosperma, tegumento, endocarpo, pericarpo, brácteas etc.), envolvendo diversos mecanismos, tais como impermeabilidade (dormência física), inibidores (dormência química) ou restrição mecânica (dormência mecânica) (Tabela 17.4). Na dormência extra-embrionária, a *escarificação* (rompimento ou enfraquecimento dos tegumentos por ação física ou química) ou o isolamento do embrião quebram a dormência, ao passo que, na dormência endógena, o embrião conserva-se dormente mesmo quando isolado.

Na maioria das vezes, os mecanismos de dormência operam em conjunto. Em alguns casos, como tomate e alface, além da restrição mecânica imposta pelos tecidos adjacentes ao embrião, a germinação envolve a capacidade metabólica do próprio embrião em romper essa resistência.

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, e não de alguma restrição localizada na própria semente ou fruto. Entretanto, como a luz, através do fitocromo, pode causar alterações no metabolismo germinativo, esse fator produz uma dormência que pode ser enquadrada como do tipo fisiológico.

Em espécies tropicais pioneiras, a dormência é, na maioria dos casos, causada pela luz (baixas razões V/VE), como ocorre em *Cecropia glaziovii*, *Piper arietinum* e *Miconia cinnamomifolia*, ou pelos envoltórios, como em muitas sementes de tegumento rígido, impermeável à água (*Schizolobium parahyba*, *Erithrina speciosa*, *Mimosa scabrella*, *Senna multijuga* etc.). Entretanto, são registrados vários outros casos de dormência relacionados à: imaturidade morfológica do embrião (como *Virola surinamensis*, *Ilex paraguariensis* e *Anona crassiflora*); presença de inibidores químicos (especialmente compostos fenólicos) no pericarpo, na testa ou no próprio embrião, como, por exemplo, em *Chorisia speciosa*, *Copaifera langsdorffii*, *Myroxylum peruiiferum* e *Amburana cearensis*; e resistência mecânica causada pelo endocarpo, como *Rapanea ferruginea*. Em muitos desses casos, a quebra da dormência é feita principalmente por imersão da semente em água, estratificação, alternâncias de temperatura e despoldamento.

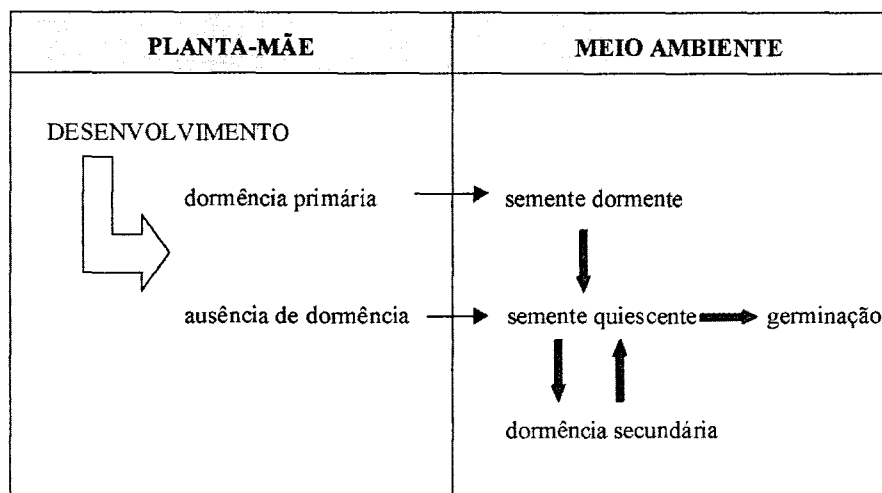


Fig. 17.8 Transição entre diferentes estados de dormência e quiescência em sementes. (Modificado de Hilhorst e Karssen, 1992.)

Com relação à dormência embrionária, observa-se que, praticamente, todos os eventos celulares e metabólicos que ocorrem antes do início do crescimento da radícula são comuns em sementes dormentes e não-dormentes, ou seja, uma semente dormente praticamente completa todas as etapas para a germinação, mas, por algum motivo, o crescimento da radícula não ocorre. Um problema central em relação a essa modalidade de dormência é identificar onde o bloqueio ocorre. Este, provavelmente, envolve a inibição, mediada por hormônios (como o ácido abscísico) de alguma reação-chave do processo de germinação. Até o momento, nenhum aspecto particular do metabolismo

pôde ser destacado como responsável pela incapacidade de crescer do embrião dormente, e muitas pesquisas vêm sendo feitas visando a identificação de “genes de dormência”, cuja expressão estaria diretamente relacionada à indução e/ou quebra da dormência.

Assim como a indução, a quebra da dormência envolve a percepção e transdução de sinais do meio ambiente, desencadeando alterações no metabolismo da semente que, por sua vez, transformarão a semente dormente em quiescente. A Fig. 17.9 apresenta um modelo bastante simplificado dos processos e fatores envolvidos na quebra de dormência e germinação. Pesquisas recentes têm focado a dormência e a ger-

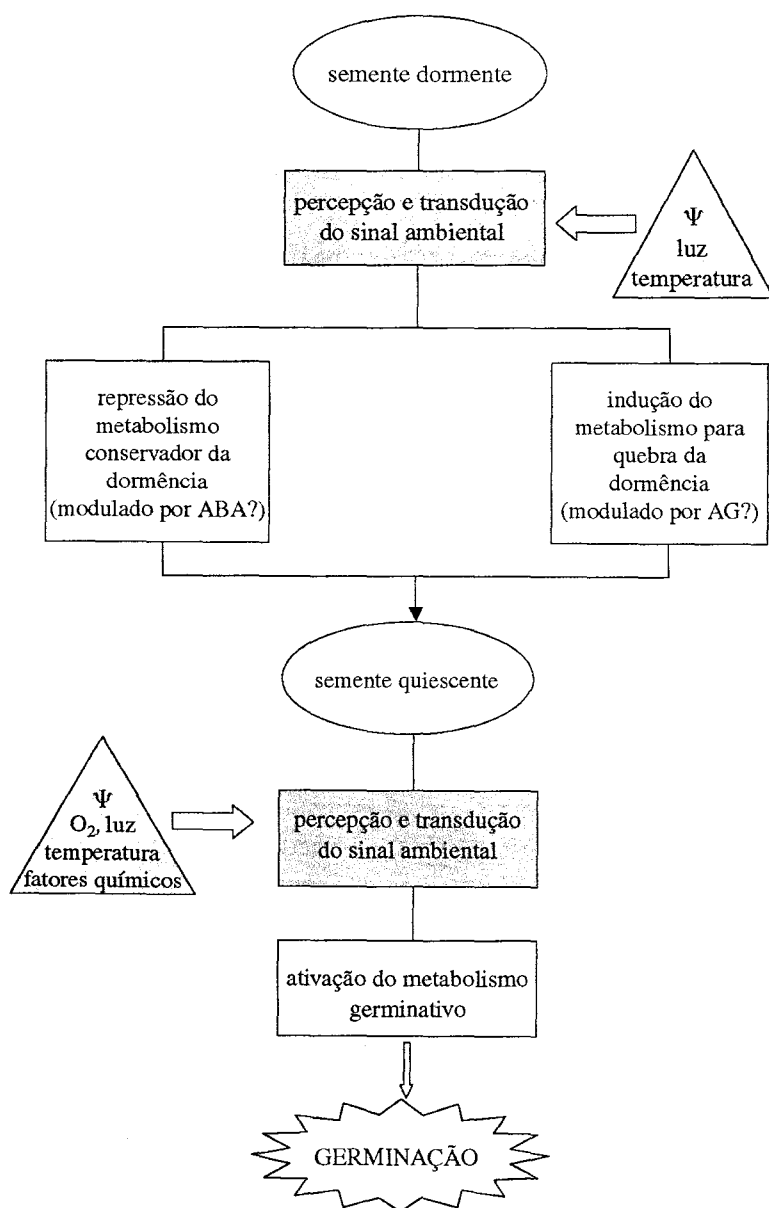


Fig. 17.9 Principais eventos associados à quebra da dormência de sementes. (Modificado de Bewley, 1997.)

TABELA 17.4 Classificação dos principais tipos de dormência em sementes

Tipos de Dormência	Causa	Exemplos
Embrionária (endógena)		
Morfológica	Imaturidade do embrião	<i>Virola surinamensis</i> , <i>Anona crassiflora</i> , <i>Pinus sylvestris</i>
Fisiológica	Inibição ou exigência metabólica específica	<i>Acer</i> spp., <i>Pyrus malus</i> , <i>Fagus sylvatica</i>
Extra-embrionária (exógena)		
Física	Impermeabilidade do tegumento e/ou envoltórios da semente	<i>Delonix regia</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Prosopis juliflora</i>
Química	Presença de inibidores no tegumento e/ou envoltórios da semente	<i>Emex spinosa</i> , <i>Bidens pilosa</i> , <i>Prunus persica</i> , <i>Rapanea guianensis</i>
Mecânica	Restrição pela presença de endocarpo, mesocarpo, endosperma e/ou tegumento rígido	<i>Syringa reflexa</i> , <i>Xanthium strumarium</i> ; <i>Lactuca sativa</i> (certas variedades), <i>Rapanea ferruginea</i>

minação como resultantes da interação entre o potencial de crescimento do embrião e as restrições impostas pelos tecidos que o envolvem. Em *Arabidopsis thaliana*, por exemplo, a remoção do tegumento permitiu a germinação, tanto de mutantes com elevado grau de dormência como deficientes em gibberelinas, indicando a importância da testa na restrição da emergência da radícula.

REFERÊNCIAS

- Aguiar IB, Piña-Rodrigues FCM, Figliolia MB. *Sementes Florestais Tropicais*. ABRATES, Brasília, 1993.
- 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, Vazquez-Ramos J (eds). *Seed Biology: Advances and Applications*. CABI, Wallingford, 2000.
- Bradford KJ. Water relations in seed germination. In: Kigel J, Galili G (eds). *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc, New York, 1995.
- 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.
- Cardoso VJM. Thermal-dependence of the germination of *Catharanthus roseus* seeds. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 1999; 11(1):41-49.
- Hilhorst HWM, Karssen CM. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant Growth Regulation*, 1992; 11:225-238.
- Kermode AR. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: Kigel J, Galili G (eds). *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc, New York, 1995.
- Labouriau LG. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* L. I. *Anais Academia Brasileira de Ciências*, 1970; 42(2):235-262.
- Oliver A, Crowe, LM, 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.
- Vazquez-Yanes et al. Seed ecology at the northern limit of the tropical rain forest in America. In: Black M, Bradford KJ, Vazquez-Ramos J (eds). *Seed Biology: Advances and Applications*. CABI, Wallingford, 2000.
- Valio IFM, Scarpa. Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasileira de Botânica*, 2001; 24(1):79-84.
- Vieira AH et al. Técnicas de produção de sementes florestais. *Boletim Embrapa/CPAFRO*, 2001; 205:1-4.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

- Aguiar IB, Piña-Rodrigues FCM, Figliolia MB. *Sementes Florestais Tropicais*. ABRATES, Brasília, 1993.

- Baskin CC, Baskin JM. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, 1998.
- Bewley JD. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 1997; 9:1055-1066.
- Black M, Bradford KJ, Vazquez-Ramos J (eds). *Seed Biology: Advances and Applications*. CABI, Wallingford, 2000.
- Castro RD, Hilhorst HWM. Dormancy, germination and the cell cycle in developing and inhibiting tomato seeds. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 2000; 12:105-136.
- Eira MTS, Caldas LS. Seed dormancy and germination as concurrent processes. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 2000; 12 (Ed Especial):85-104.
- Fenner M (ed). *The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, 2nd ed. CABI, Wallingford, 2000.
- Kigel J, Galili G (eds). *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc, New York, 1995.
- Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. Seed germination and dormancy. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002; 5:33-36.



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.

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 desenvolvimento. 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 do alongamento do estolão e intumescimento radial da região subapical deste, devido ao alongamento celular e divisões celulares; e (c) o crescimento do tubérculo, ca-

racterizado 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 tuberização é influenciado por fatores ambientais e endógenos, podendo ser favorecido por noites longas (fotoperíodos curtos), tempera-

turas baixas e níveis baixos de nitrogênio, entre outros (Fig. 18.1).

Fatores ambientais

Semelhante 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 tuberização; portanto, nesse processo, a batata é considerada uma planta de dias curtos. Quando em condições de fotoperíodo longo, ocorre um atraso na tuberização, havendo maior crescimento das porções

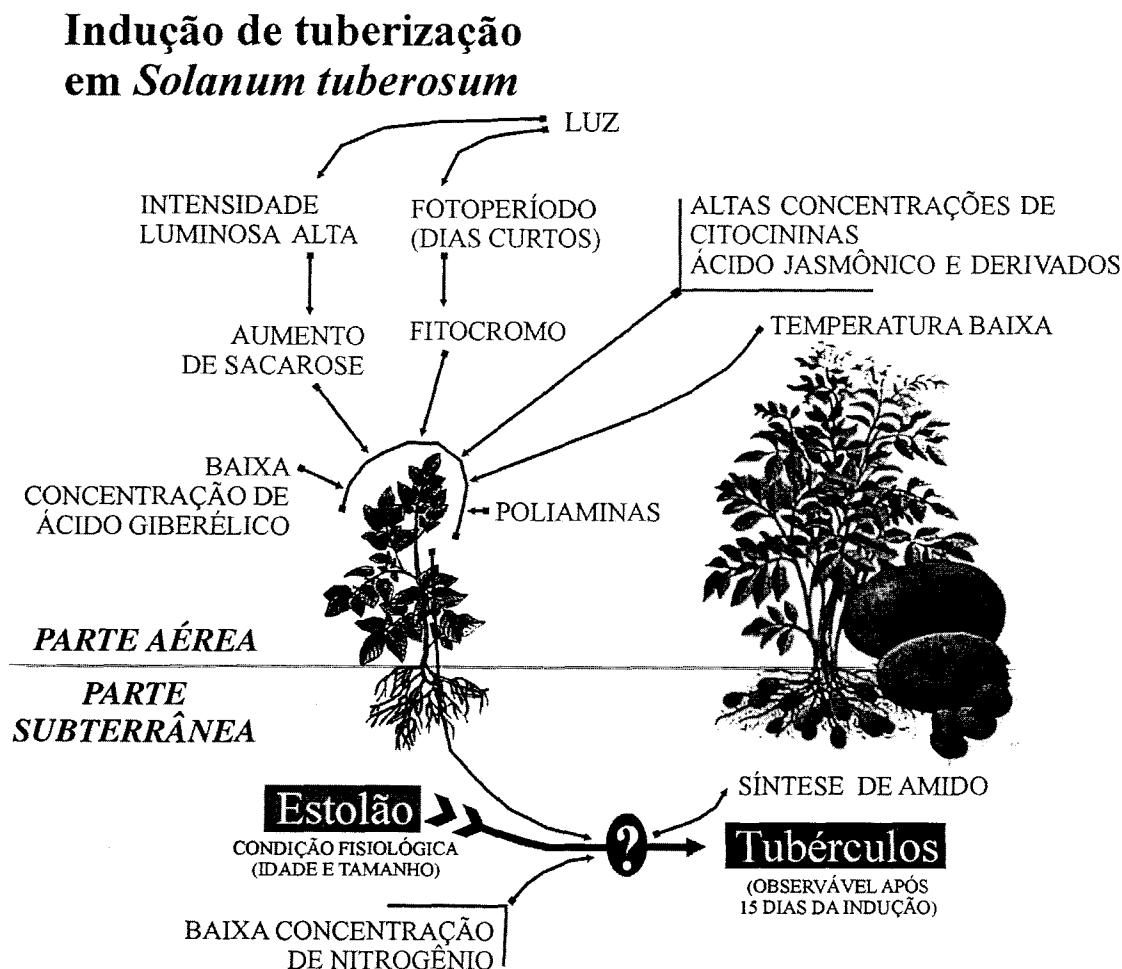


Fig. 18.1 Fatores ambientais e supostas moléculas sinalizadoras que afetam a indução de tuberização de batata (*Solanum tuberosum*).

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 tuberização 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 tuberização. No processo de tuberização 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 tuberização.

O estímulo da tuberização 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 tuberização de enxertos de batata (*Solanum tuberosum*). Se a planta de tabaco, que requeria dias curtos para florescer, era exposta a fotoperíodo curto e suas folhas eram enxertadas em batata, mantida em condições não-indutoras de tuberização, seria possível induzir o processo de tuberização nos enxertos de batata. Outra variedade de tabaco que requeria fotoperíodos longos para florescer (*Nicotiana sylvestris*), induziria a tuberização 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 tuberização em batata, claramente indicando haver um mesmo estímulo translocável para ambos os processos, o qual não é espécie-específico.

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. 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 vermelho extremo 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 níveis reduzidos de fitocromo B ou sua ausência induzem a tuberização de batata, tanto em dias curtos como em dias longos, enquanto, em plantas selvagens, somente dias curtos com 8 horas de luz e 16 horas de escuro promovem o processo. Esses dados sugerem que, nas plantas selvagens, o fitocromo B encontra-se em concentração baixa somente em dias curtos. Além da batata, *Begonia*, algumas espécies de *Dahlia*, *Helianthus tuberosus*, *Phaseolus multiflorus*, *Phaseolus coccinius*, *Gladiolus* sp. e *Oxalis* sp. são plantas que têm a formação de tubérculos estimulada por dias curtos. Entretanto, existem espécies do gênero *Allium*, como cebola, cebolinha e alho, que tuberizam em fotoperíodos longos. Embora a natureza precisa do sinal ainda não seja conhecida, há fortes evidências de que o fitocromo B esteja envolvido na produção de um inibidor de tuberização transmissível através de enxertia. O fitocromo A foi recentemente descrito como sendo o fator controlador do ritmo circadiano, impedindo a formação de tubérculos de batatas transgênicas em condições não-indutoras. Assim, 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 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 tuberação é a quantidade de nitrogênio disponível para a planta. Se, por um lado, níveis altos de nitrogênio presentes no solo reduzem a tuberação, temperaturas baixas podem inibir a absorção de nitrogênio, promovendo 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).

Alguns tubérculos são indiferentes quanto ao fotoperíodo, tais como os de yacón (*Polymnia sonchifolia*), 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 do ciclo anual (Vilhena, 1997; Itaya *et al.*, 2002).

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. 10, 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 inibir 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 tubérculos. Essas informações levam à conclusão de que giberelinas devam ser consideradas inibidores da tuberação. Sendo assim, quais seriam os hormônios antagônicos de AG? O ácido abscísico (AAB) tem desempenhado esse papel em outros processos, porém o balanço AAB/AG em condições indutoras não fornece evidências de que essa hipótese seja verdadeira para a tuberação. Entre cultivares diplóides de batata foi encontrado um mutante incapaz de controlar a transpiração devido à deficiência em AAB. Dentre outras características, essas populações apresentavam tuberação em dias longos.

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 de resposta a esses fitormônios é dependente dos níveis de sacarose do meio de cultura e do genótipo do cultivar em estudo. A necessidade de hormônios vegetais de crescimento para promover a tuberação *in vitro* em *Ullucus tuberosus* também foi demonstrada recentemente. Contudo, em *Dioscorea delicata* cultivada *in vitro*, o metabolismo de carboidratos foi significativamente afetado pelos níveis de citocininas e de sacarose do meio, sem

ocorrer o processo de tuberização (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. 9, 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 α -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 taxa carbono/nitrogênio. Conclusões definitivas só poderão ser obtidas quando métodos ana-

líticos 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 DE RESERVA

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. Em *Vernonia herbacea*, uma Asteraceae nativa do cerrado, há o desenvolvimento concomitante da parte aérea e dos rizóforos, estruturas espessadas de natureza caulinar, com fototropismo negativo (Carvalho & Figueiredo-Ribeiro, 2001).

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 a formação de amido não é necessária para esse processo. Assim, a redução da enzima pirofosforilase de adenosina-difosfato-glicose (pirofosforilase ADP-glicose) por repressão anti-senso diminuiu significativamente o nível de amido em tubérculos de batata, enquanto a formação dessas estruturas não foi afetada, havendo apenas um aumento no número e uma redução no tamanho delas.

A sacarose formada pela fotossíntese 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 (tubérculos ou bulbos), 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.

O interesse acadêmico no esclarecimento completo do metabolismo da sacarose nos últimos anos é indiscutível. A Fig. 18.2 esquematiza as principais vias metabólicas envolvendo a sacarose e os polisacarídeos de reserva mais estudados, amido e frutanos.

A sacarose é degradada por invertases ou sintetase de sacarose (reversão da síntese) no vacúolo ou no citoplasma; a glicose 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-glicose, que é uma enzima-chave na síntese do amido, a sintetase de amido, que promove o alongamento das cadeias do α -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 citossólica 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 rhapontici* (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 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 tuberização) para órgão-fonte (quebra de dormência e brotação de ramos aéreos).

palmente em Asteraceae; no cerrado brasileiro, mais de 60% dos representantes desse grupo vegetal acumulam esses polímeros nos órgãos subterrâneos de reserva, nos quais atingem quantidades superiores a 70% do peso seco; (b) levano ou fleano, com o precursor 6-cestose, ligações β -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 β -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 o acceptor 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).

Além dos carboidratos já mencionados e de outros polissacarídeos solúveis, como os glucomananos, 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 co-pigmentos, as saponinas triterpênicas de ginseng (*Panax ginseng* – Araliaceae), os alcalóides tropanos (hiosciana 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 apresenta 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 na última década, devido à possibilidade de criação de plantas transgênicas mais eficientes na produção de sacarose e na sua conversão em biomassa.

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 calorias por área cultivada. As espécies andinas mais importantes na alimentação, além da batata, são uluco (*Ullucus tuberosum* – Basellaceae), produtora de vitamina C e saponinas; *Arracia xanthorrhiza* (Umbelliferae), oca (*Oxalis tuberosa* – Oxalidaceae), manchua (*Tropaeolum tuberosum* – Tropaeolaceae) e yacón (*Polymnia sonchifolia* – Asteraceae), produtora de inulina, sendo consumida como fruta, especialmente por diabéticos.

Órgãos subterrâneos de algumas espécies tuberosas nativas ou cultivadas no Brasil e potencialmente úteis podem ser observados na Fig. 18.3, e as estruturas químicas dos principais compostos nelas encontrados estão representadas na Fig. 18.4.

Utilizados pelo homem desde tempos imemoriais, os órgãos tuberosos ocupam lugar de destaque na produção agrícola mundial, como pode ser constatado na Tabela 18.1. Isso ocorre especialmente nas regiões tropicais, onde a agricultura ainda tende a ser baseada em culturas que se propagam vegetativamente.



Fig. 18.3 Plantas tuberosas subutilizadas e com alto potencial alimentício e industrial: (a) parte aérea de taioba, *Xanthosoma sagittifolium*, e (b) seus órgãos subterrâneos de reserva; (c) parte aérea de yacón, *Polymnia sonchifolia* e (d) suas raízes tuberosas; (e) caule volúvel de *Dioscorea* (cará); (f) bulbilhos aéreos de *Dioscorea bulbifera* e (g) tubérculo de *Dioscorea olfersiana*; (h) planta de ariá, *Calathea allouia*, e raízes tuberosas; (i) planta de *Vernonia herbacea* e rizóforos; e (j) planta de *Viguiera discolor* com xilopódio (xi) e raiz tuberosa (rt).

Além das espécies produtoras de amido apresentadas na Tabela 18.1, 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. 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 me-

TABELA 18.1 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	1970	1980	1990	1997	2001	
Raízes e tubérculos⁴										
<i>Solanum tuberosum</i>	batata	2.234	2.670	2.787	298.692	241.386	266.063	302.348	300.195	
<i>Beta vulgaris</i>	beterraba doce	-	-	-	224.252	267.856	309.187	268.310	234.245	
<i>Ipomoea batatas</i>	batata-doce	637	655	485	136.900	138.389	123.664	121.795	135.919	
<i>Manihot esculenta</i>	mandioca	24.322	24.354	24.088	98.560	124.253	152.353	161.950	178.868	
<i>Allium cepa</i> (desidr.)	cebola	869	881	982	16.273	21.632	29.407	39.327	46.750	
<i>Dioscorea</i> sp.	cará, inhame	215	215	235	17.426	11.636	21.140	34.711	38.614	
<i>Daucus carota</i>	cenoura	-	-	-	7.854	10.445	13.581	18.895	19.632	
<i>Allium sativum</i>	alho	71	64	102	2.855	4.252	6.426	8.858	10.121	
<i>Colocasia esculenta</i>	taro, taioba	-	-	-	5.092	3.823	4.487	6.591	8.977	
<i>Cynara scolymus</i>	alcachofra	-	-	-	1.276	1.254	1.323	1.241	1.279	
<i>Zingiber officinalis</i>	gingibre	-	-	-	114	246	465	712	835	
<i>Xanthosoma</i> <i>sagittifolium</i>	taioba	-	-	-	129	272	154	218	245	
Outros produtos vegetais de importância										
<i>Saccharum</i> <i>officinatum</i>	cana-de-açúcar	262.074	332.612	339.136	608.616	735.923	1.053.371	1.251.526	1.254.856	
<i>Triticum</i> sp.	trigo	3.094	2.489	3.203	310.637	440.102	592.273	613.210	582.692	
<i>Zea mays</i>	milho	21.348	32.948	41.411	265.911	395.144	483.249	584.954	609.182	
<i>Oryza sativa</i>	arroz	7.420	8.351	10.207	316.367	396.818	518.166	577.118	592.831	
<i>Glycine max</i>	soja	19.898	26.391	37.675	43.692	81.039	108.449	144.420	176.639	
<i>Phaseolus vulgaris</i>	feijão	2.234	2.840	2.445	12.549	13.474	17.031	16.409	16.772	
<i>Coffea</i> sp.	café	1.780	1.465	1.229	3.850	4.829	6.063	5.939	7.045	

Fonte: www.fao.org/database (2002).

¹Espécies ou gêneros de acordo com denominação da FAO.

²Nome popular (podem existir outras denominações locais).

³Dados referentes à produção de exportação e consumo local.

⁴Produtos alimentícios (amido e sacarose).

tabilizada, produzindo frutose e frutanos de baixo peso molecular, especialmente quando estes são armazenados em temperaturas baixas. Assim, o processamento 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 fruto-oligosacarídeos, 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 páfias (*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.

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 rotundata* e *D. alata*. 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 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.

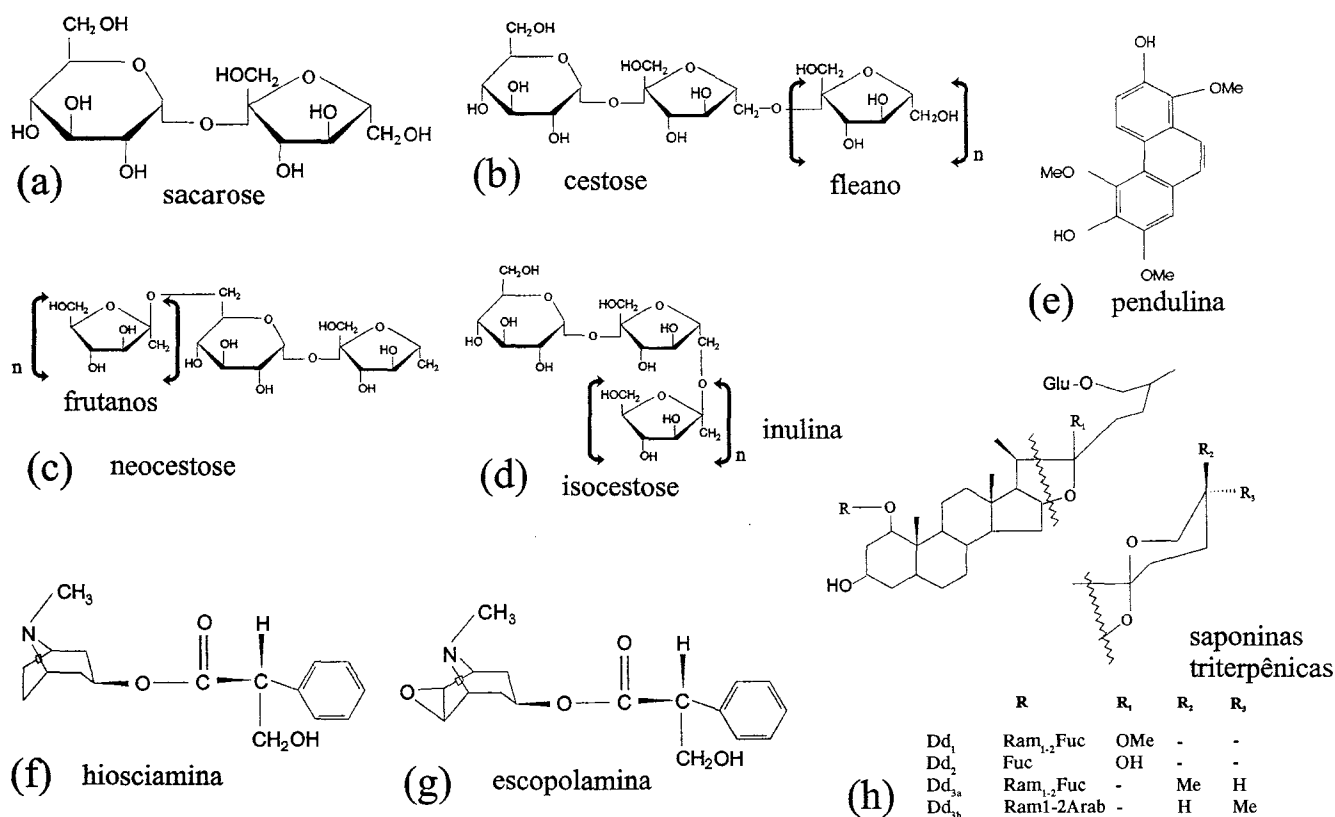


Fig. 18.4 Estrutura de compostos acumulados nos órgãos de reserva de plantas nativas e cultivadas: (a) sacarose e trissacarídeos (b, c, d) originários das séries de polímeros de frutose, (e) pendulina – antifúngico de *Dioscorea delicata*, (f, g) alcalóides tropanos e (h) saponinas triterpênicas de *Dioscorea delicata*.

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, notadamente de regiões andinas, precisa ser mais bem explorado. Além disso, de outros compostos secundários de interesse econômico também armazenados nos órgãos tuberosos, poucos são os efetivamente conhecidos e utilizados até o momento. Esses compostos constituem a base da defesa bioquímica 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 en Iberoamerica: Tecnología y Salud*. Varela Editora e Livraria Ltda, São Paulo, 2001, pp 77-89.
- 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.
- 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.
- 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.
- Vilhena SMC. *Efeitos da exposição ao sol e do armazenamento sobre o conteúdo e a composição dos carboidratos de reserva em raízes tuberosas de "yacon" (Polymnia sonchifolia Poep Endl.)*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agronômicas do Campus de Botucatu – UNESP, Botucatu, 1997, 63p.

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.

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 conduziram 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 *signal ambiental* que, ao ser percebido, desencadeia mudanças no metabolismo e no desenvolvimento das plantas. A Fig. 19.1 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 (movimento de organelas e órgãos) e o desenvolvimento das plantas:

1. Direção (ver Caps. 8 e 14);

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. 19.2), 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.

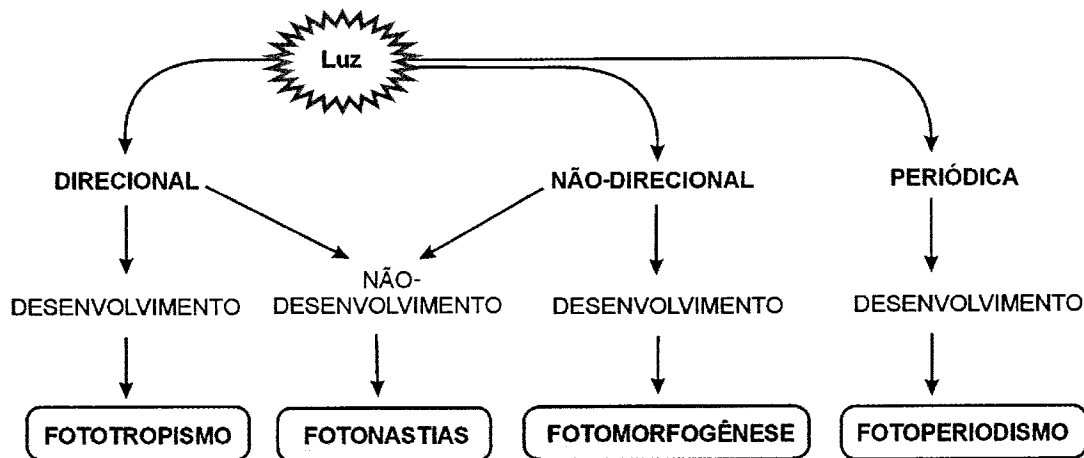


Fig. 19.1 Vários fenômenos fisiológicos de plantas são controlados pela luz. Muitos deles dependem de propriedades físicas da luz incidente, tais como direção, qualidade espectral e periodicidade.

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. 19.2 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 de-

envolvimento 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. 19.2). 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

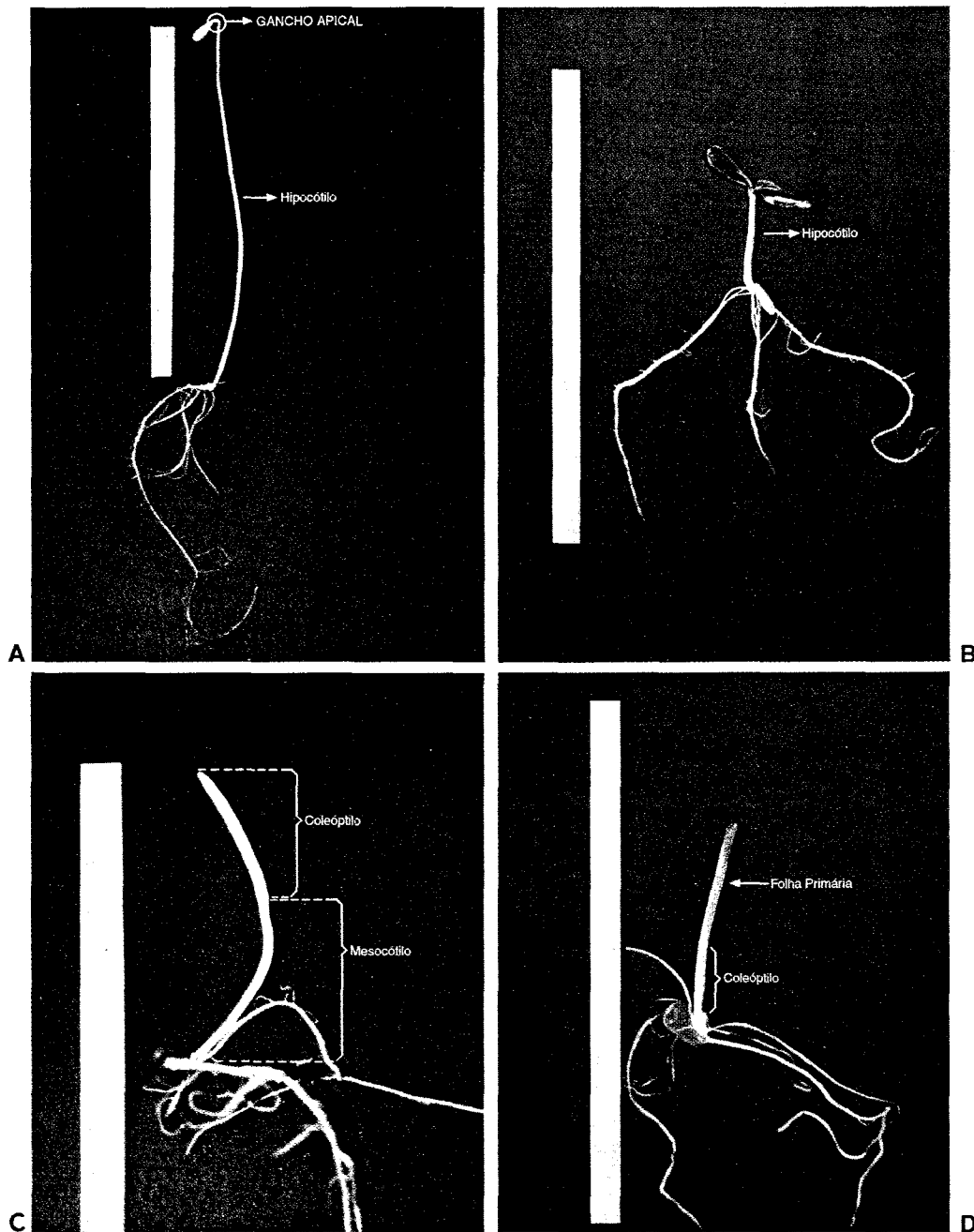


Fig. 19.2 Plântulas de pepino (*Cucumis sativus*) (A e B) e de milho (*Zea mays*) (C e D) 8 dias após início da germinação (embebição). As plântulas à esquerda (A e C) foram mantidas no escuro e as da direita (B e D) cresceram em presença de luz. De modo geral, plântulas crescidas no escuro, denominadas 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.

de e velocidade de germinação). Tais sementes são denominadas *fotoblásticas positivas*. Sementes cuja germinação é inibida pela luz são designadas *fotoblásticas negativas*. Na década de 30, 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 50, 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). Gra-

ças ao rigor e à precisão dessas condições de trabalho, foi 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).

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 19.1 e na Fig. 19.3 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 recon-

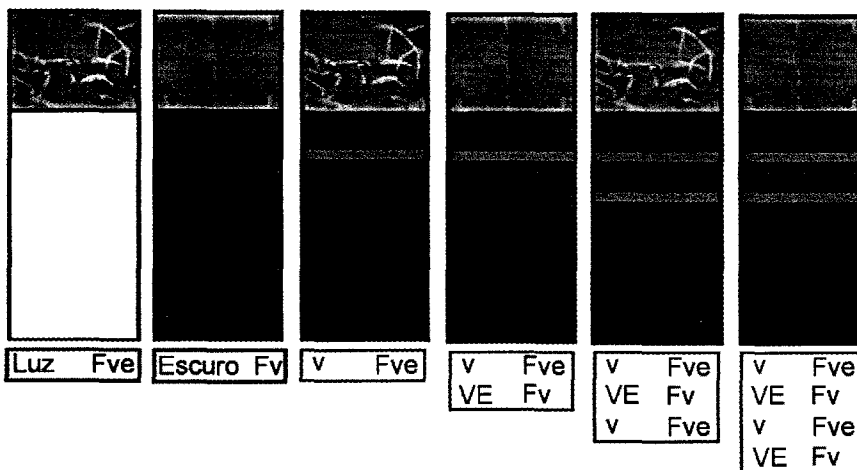


Fig. 19.3 Sementes fotoblásticas positivas germinam após receberem um pulso (1 minuto) de luz de comprimento de onda vermelho (V). Esse efeito pode ser revertido se, em seguida, as mesmas sementes forem irradiadas alguns minutos com luz de comprimento de onda vermelho-extremo (VE). Quando tratamentos 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.

TABELA 19.1 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

duzidas 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. 19.4).

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 fotossensoriais e fisiológicas distintas. De acordo com esses estudos, o fitocromo A (*phyA*), que, caracteristicamente, acumula-se no escuro e desaparece rapidamente em presen-

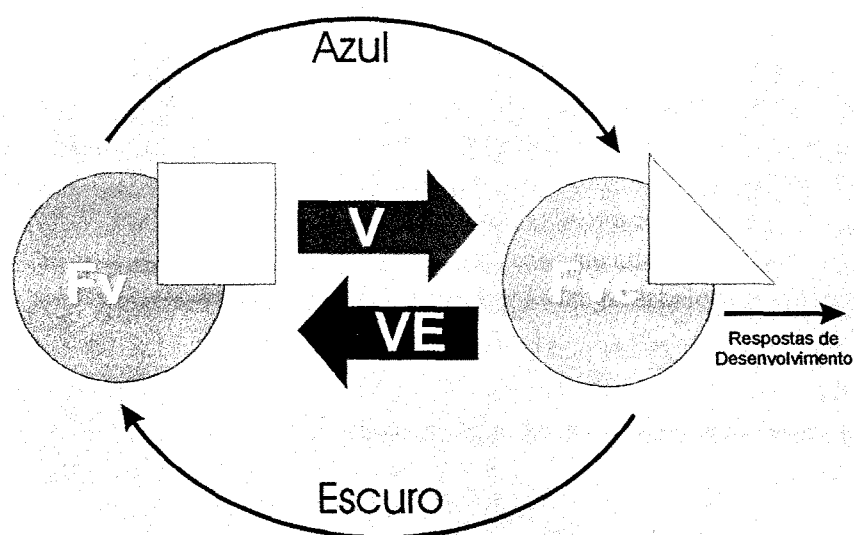


Fig. 19.4 As duas formas fotorreversíveis do fitocromo, *Fv* e *Fve*, são correlacionadas com a indução de respostas metabólicas e de desenvolvimento. A fotoconversão da forma do fitocromo *Fv* a *Fve* é induzida por comprimento de onda no vermelho (V) e por luz azul, e a reversão de *Fve* a *Fv* é induzida por comprimento de onda no vermelho-extremo (VE) e também pelo escuro.

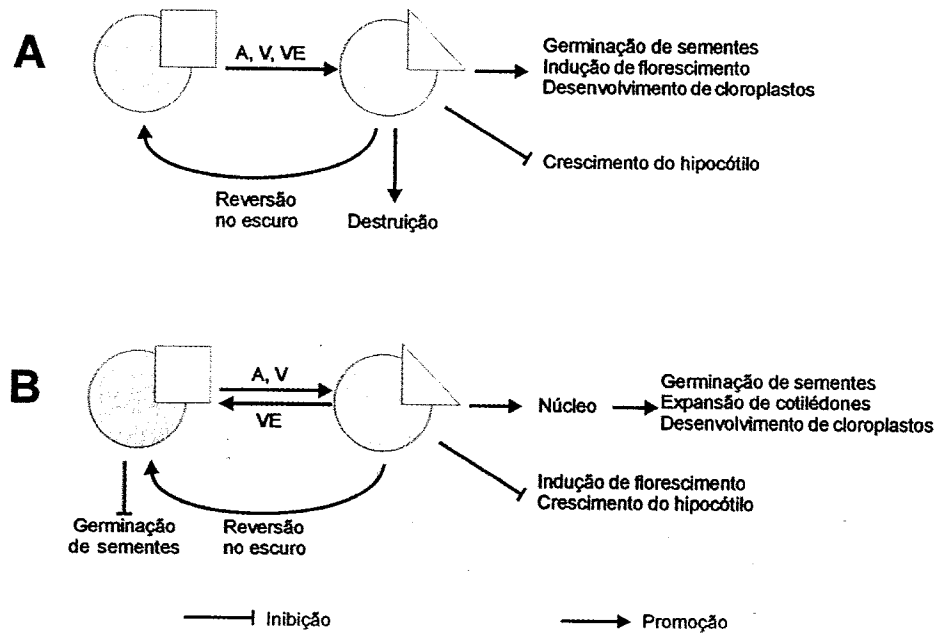


Fig. 19.5 Resumo esquemático da fotoconversão Fv-Fve e dos processos de desenvolvimento regulados por phyA e phyB. As setas indicam promoção e a terminação em T indica inibição dos eventos fisiológicos mencionados. (Adaptado de Chory, 1997.)

ça 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. 19.5). 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).

As moléculas de fitocromo são dímeros protéicos (Fig. 19.6). Cada subunidade contém um cromóforo que se liga covalentemente à proteína phy (*apoproteína*). O cromóforo é um tetrapirrol de cadeia aberta denominado fitocromobilina (Fig. 19.7). Juntos, a apoproteína e seu cromóforo formam a *holoproteína* (Chory, 1997). As

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.

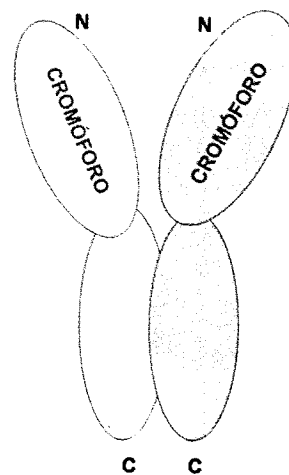


Fig. 19.6 Esquema da estrutura do fitocromo formado por um dímero protéico. Cada subunidade protéica liga-se a um cromóforo.

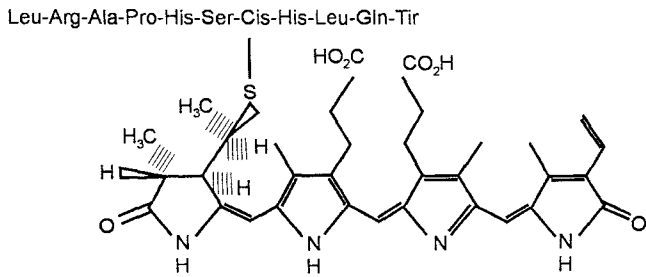


Fig. 19.7 O cromóforo do fitocromo é uma cadeia tetrapirrólica aberta.

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. 19.8).

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 isomeriza-

ção *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. 19.4 e 19.5).

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. 19.9). Seja *in vivo*, seja *in vitro*, a maior parte das moléculas do fitocromo é 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. 19.3 e 19.9). Por esse motivo, em presença de luz vermelha saturante, a for-

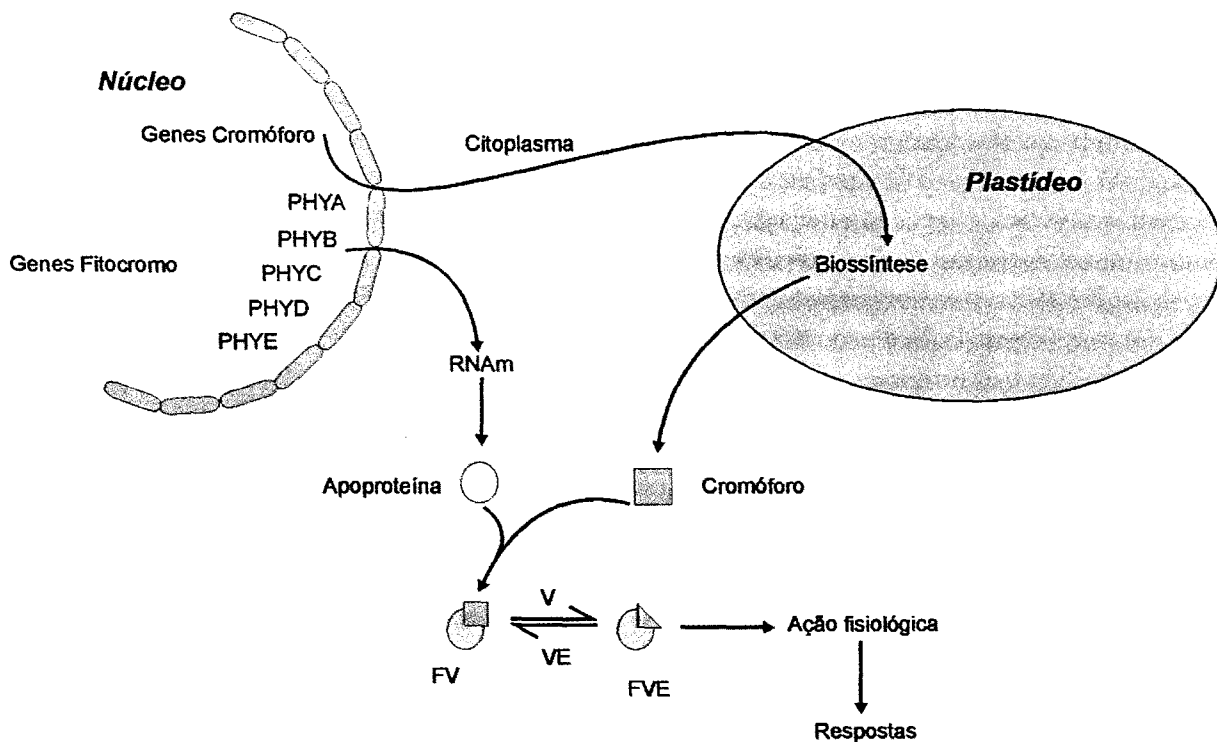


Fig. 19.8 As subunidades protéicas dos fitocromos (apoproteína) são codificadas por genes nucleares e sintetizadas no citoplasma. O cromóforo é sintetizado no interior dos cloroplastos e transportado para o citoplasma. A ligação entre as apoproteínas e o cromóforo forma moléculas ativas de fitocromos (holoproteínas).

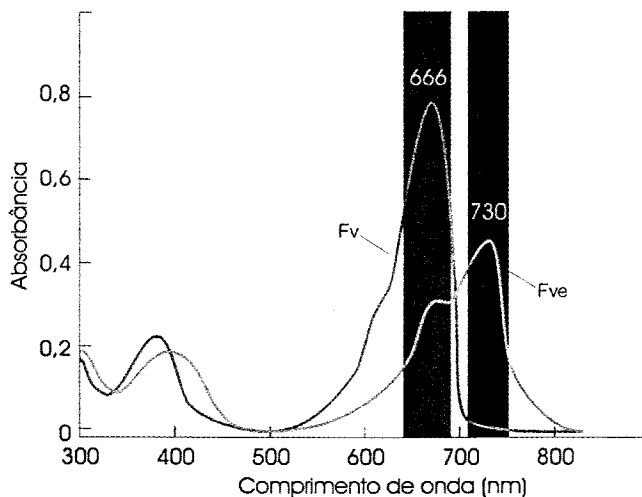


Fig. 19.9 Espectros de absorção do fitocromo phyA nas formas Fv e Fve. A forma Fv tem pico em luz V (666 nm) e a forma Fve em luz VE (730 nm). A forma Fv também absorve um pouco na faixa do VE e Fve absorve significativamente na faixa do V. Note que, além da faixa do vermelho, as formas de fitocromo também possuem picos de absorção na faixa do azul (320–400 nm) e ultravioleta (280 nm).

ma 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. 19.9). 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 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 (RFMB), *respostas de*

*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.

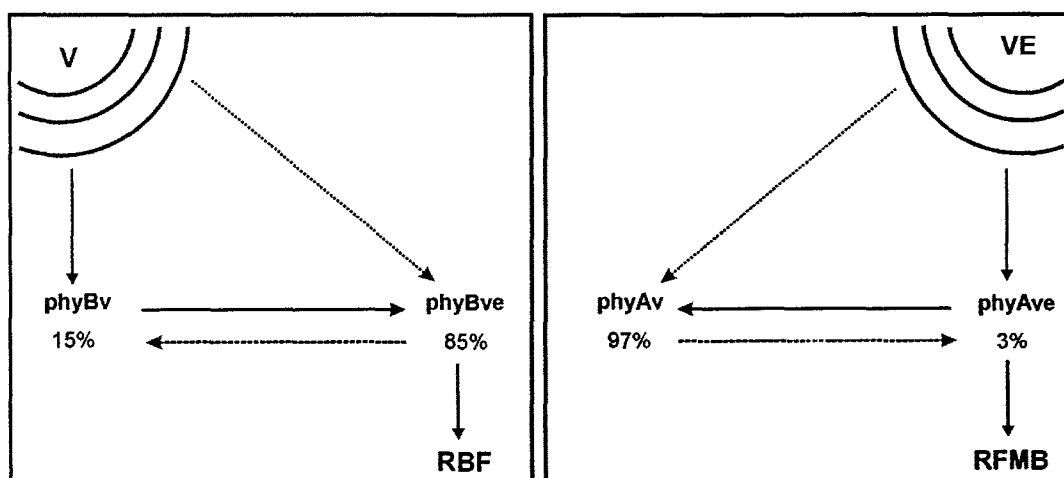


Fig. 19.10 Interação entre fluência e comprimento de onda da fonte luminosa nas respostas ao fitocromo. Em plantas crescidas sob luz, a irradiação saturante com luz V, a forma Fv do fitocromo phy B (phyBv) irá absorver luz V e converter-se na forma ativa (phyBve). Contudo, a forma phyBve (Fve) também absorve um pouco de luz V (ver Fig. 19.9), 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).

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 $0,1 \text{ nmol.m}^{-2}$ e satura em 50 nmol.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. 19.10).

A RBF é a resposta clássica de fitocromo induzida por V e revertida por VE, como ocorre na germinação de sementes de alfaca, 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. 19.5 e 19.10).

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.19.11). Na inibição do crescimento do

*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.

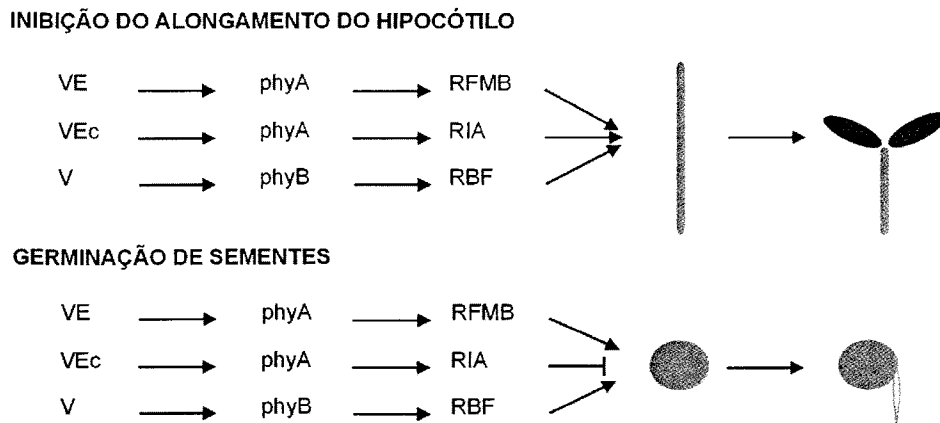


Fig. 19.11 Modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do hipocótilo e regulação da germinação de sementes. RFMB é mediada por phyA sob VE. RBF é mediada por phyB sob luz V. RIA é mediada por phyA sob exposição ao vermelho-extremo contínuo (VEc). Observe que a germinação de sementes é inibida por VEc em RIA ou por pulsos de VE em RBF (não mostrado aqui). (Adaptado de Casal & Sanchez, 1998.)

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 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. 19.12). 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

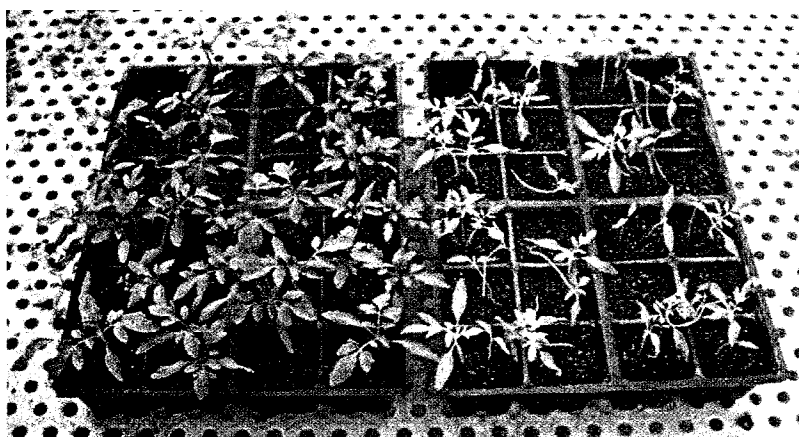


Fig. 19.12 Fenótipo do mutante *aurea* (*au*) (do latim = amarelo) de tomateiro. As plantas da esquerda são selvagens e as da direita são do mutante *au*. Notar o aspecto estiolado das plantas e o baixo acúmulo de clorofila, prevalecendo os carotenóides (amarelo) que conferem a coloração dourada das plantas.

acúmulo do fitocromo tipo A (*phyA*) em plantas selvagens que crescem sob VE está associada 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. 19.13a). 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, causando inibição do alongamento do hipocótilo. Mutantes de tomateiro que estiolam sob esse comprimento de onda são deficientes em *phyB* (Fig. 19.13b). 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 celu-

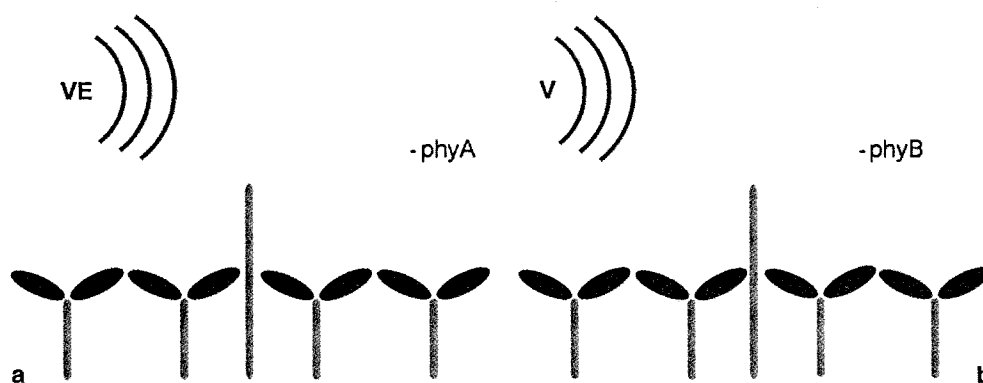


Fig. 19.13 Mutantes deficientes no acúmulo de *phyA* apresentam um estiolamento proeminente após a transferência do escuro para o VE (a). Sob V, mutantes deficientes no acúmulo de *phyB* estiolam por um período de aproximadamente dois dias após a transferência do escuro para o V (b).

lar, 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. 14, Mo-

vimento 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 Ca^{2+} também está envolvido como mensageiro secundário em movimentos nicnásticos. Rápidas mudanças nas concentrações citoplasmáticas de Ca^{2+} , 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 19.2 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

TABELA 19.2 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	–

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).

$$\phi = [\text{Fve}] / [\text{Fv} + \text{Fve}] \quad \text{ou} \quad \phi = [\text{Fve}] / [\text{Ftotal}]$$

Os valores de ϕ nas células controlam inúmeros processos moleculares e celulares que resultam em mudanças no crescimento 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 pionei-

ras 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. 19.2).

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 sombreamento 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 pela redução dos valores da razão ζ , ou seja, pelo enriquecimento de luz VE (Fig. 19.14). 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).

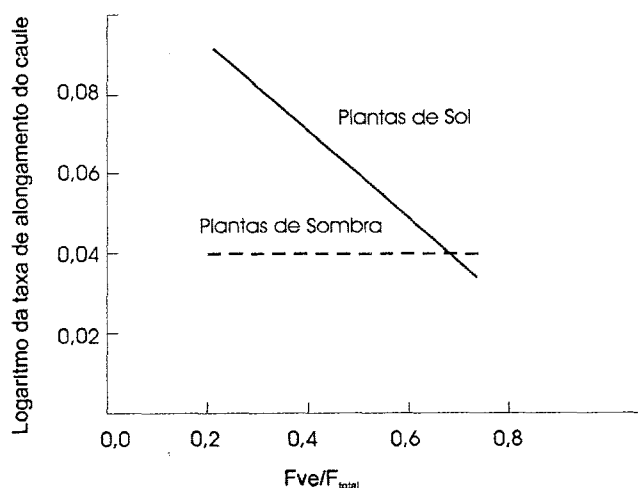


Fig. 19.14 Plantas adaptadas ao sol e à sombra respondem de modo diferente às mudanças na qualidade da luz. À medida que aumenta a proporção relativa da radiação V (elevação da razão ζ), há um maior acúmulo das formas ativas dos fitocromo (Fve), aumentando a razão Φ ($F_{ve}/F_v + F_{ve}$). A elevação 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.

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 ($F_{ve}B$). A luz VE contínua, absorvida por phyA, atua de modo oposto, mantendo o estiolamento, devido à redução dos níveis de fitocromo $F_{ve}B$. 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. 19.15). 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

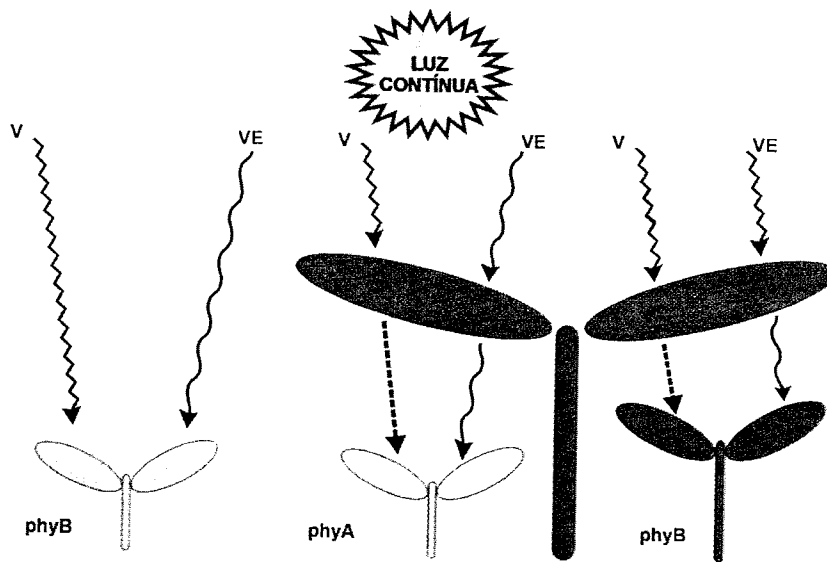


Fig. 19.15 Efeitos de phyA e phyB na evitação à sombra. Plantas crescendo em clareiras (ambiente rico em luz V) acumulam preferencialmente phyB. Plantas em condições sombreadas (ambiente rico em luz VE) acumulam phyA. Como phyA é instável, ao ser degradado ele é posteriormente substituído por phyB. (Modificado de Taiz & Zeiger, 2002.)

mediada por phyB. O efeito de phyA na inibição do estiolamento ocorre se o comprimento de onda predominante for VE contínuo, o que 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. 15, 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. 16, Floreação). 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 UV-A (ultravioleta banda A), não-direcional, promovem várias respostas em plantas, tais como inibição do alongamento do caule e hipocótilo, expansão foliar, florescimento 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 UV-A, direcional, promovem a expansão assimétrica do caule, levando à curvatura fototrópica em direção à fonte de luz (ver Cap. 14, 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 ob-

*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.

servações 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 (UV-A) e três picos diferentes no azul (400 a 500 nm). Os fotorreceptores responsáveis pela resposta fototrópica foram denominados *fototropinas*. Até o momento foram 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 L G. 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.

Índice Alfabético

A

- α -amilase, 287
- modelo proposto para a síntese de, induzida pela giberelina na camada de aleurona da cevada, 289
- Abacaxizeiro, 313, 377
- Abscisão, 243, 327
- Absorção
 - de água pelas células, 1
 - de nutrientes pelas plantas, 71
 - do N inorgânico do solo, 95
 - iônica pelas células das raízes, 45
 - - absorção de nutrientes minerais pelas folhas, 53
 - - caminho dos solutos do meio exterior para o apoplasto das raízes, 45
 - - via simplasto: transporte de solutos através das membranas das células, 48
 - - - estrutura e composição das membranas, 48
 - - - mecanismos passivos e ativos de transporte de solutos na membrana plasmática e tonoplasto, 49
- Acacia, 321
- *cornigera*, 403
- Acer* spp., 395
- Acetabularia mediterranea*, 309
- Acetil-cisteína, 61
- Acetil-CoA, 203
- Acetileno, 90, 310
- Acetil-serina, 61
- α -cetogluturato, 202
- Acetolactato, sintase do, 111
- Ácido(s)
 - abscísico, 36, 237, 293-307, 377
 - - aplicações práticas, 306
 - - biossíntese, 297, 298
 - - efeitos fisiológicos, 301
 - - estrutura, principais formas e atividade, 295
 - - histórico e descoberta, 293
 - - inativação, 300
 - - introdução, 293
 - - mecanismo de ação, 301
 - - - expressão gênica, 303
 - - - transdução de sinais, 301
 - - modo de ação do, em células-guardas, 302
 - - ocorrência nas plantas, 294
 - - principais funções, 303
 - - - desenvolvimento da semente, 304
 - - - dormência de gemas, 305
 - - - proteção ao estresse hídrico, 303
 - - - proteção contra injúrias, 306
 - - - senescência, 305
 - - síntese
 - - - dos carotenóides não-oxigenados, 297
 - - - e clivagem dos carotenóides oxigenados nos plastídeos, 298
 - - - no citossol, 298
 - - transporte, 301
 - - α -ceto- γ -metiltiobutírico, 310
 - alantóico, 102
 - 1-aminociclopropano-1-carboxílico, 311
 - aminooxiacético, 311
 - 4-amino-3,5,5-tricloropicolínico, 219
 - ascórbico, 315
 - aspártico, 102
 - benzóico, 338
 - β -O-D glucosilalicílico, 339
 - chiquímico, 203
 - 4-cloroindolil-3-acético, 219
 - *ent-7 α -hidroxi-kaurenóico*, 280
 - *ent-kaurenóico*, 280
 - fenilacético, 219
 - fosfoenol pirúvico, 155
 - 3-fosfoglicérico, 164
 - gama-aminobutírico, 110
 - giberélico, 319
 - glutâmico, 100
 - graxos dos fosfolipídios, 49
 - 13-hidroperoxilinolênico, 337
 - indolil-3-acético ou indolilacético, 217, 218, 377, 412
 - - descarboxilação oxidativa do, 224
 - - metabolismo do, 220
 - - - biossíntese, 220
 - - - conjugação, 222
 - - - degradação, 223
 - - rotas de degradação, 223
 - indolil-3-butírico, 219
 - indolil-3-pirúvico, 221
 - jasmônico, 337
 - - biossíntese, 337
 - - e derivados, 410
 - - funções, 337
 - linolênico, 337
 - málico, 336
 - 2-metoxi-3,6-diclorobenzóico, 219
 - mevalônico, 297
 - monossilcico, 69
 - nucléicos, 94, 206
 - octadecanóico, 413
 - orgânicos, 184
 - - de três carbonos, 144
 - orto-cumárico, 339
 - oxaloacético, 155
 - 12-oxo-fitodienóico, 337
 - 2-oxosuccinâmico, 104
 - salicílico, 338
 - - biossíntese, 338
 - - funções, 339
 - *trans*-cinâmico, 338
 - tricarbóxicos, 202
 - - ciclo dos, 200
- Acidose do citossol, 205
- Açúcares, 192, 375
- Adenina, 252
- Adenosina-difosfato-glicose, enzima pirofosforilase de, 414
- Adenosina difosfato ribose cíclica, 302
- Adenosina-fosfossulfato, 60
- α -difluorometilarginina, 335
- Ado-Met sintetase, 393
- ADP-glicose pirofosforilase, 162
- Adubação
 - nitrogenada, 375
 - verde, 94
- Aechmea victoriana*, 314
- Aerênquima, 329
- esquizógeno, 330
- lisígeno, 330
- - etapas da formação de, 331
- Aerenquimatoso, câmara, 330
- AG₁₂-aldeído, 281
- Agaricus bisporus*, 309
- Agentes tóxicos, 312
- Agmatina, 110
- Agrobacterium*
 - *rhizogenes*, 257

- *tumefaciens*, 255
 - Água
 - absorção de, pelas células, 1
 - deficiência de, no solo, 16
 - eficiência
 - de uso da, 31, 169
 - estrutura e propriedades físico-químicas da, 2
 - estrutura da molécula de água, 2
 - propriedades físicas e químicas da água, 4
 - de coesão e adesão, 6
 - de solvente, 4
 - térmicas, 5
 - fotoxidação da, 128
 - movimento da, entre células e tecidos, 13
 - nas raízes, absorção e movimento radial de, 18
 - no solo, 16
 - no xilema, movimento ascendente de, 21
 - capilaridade, 23
 - pressão positiva da raiz, 22
 - teoria da coesão e tensão, 24
 - potencial de, 11
 - componentes do, 12
 - de pressão, 12
 - gravitacional, 13
 - mátrico ou matricial, 13
 - osmótico, 12
 - processo do movimento da, 7
 - difusão, 8
 - fluxo em massa, 7
 - osmose, 9
 - AIA (v. Ácido indolilacético)
 - Alagamento, 314 (v.tb. Solo alagado)
 - crescimento caulinar de plantas de arroz cultivadas sob, 319
 - estresse de, 349
 - Alanina, 105, 256
 - aminotransferase da, 105
 - formação de, a partir de piruvato, 111
 - Alantoína, 102
 - Albizzia julibrissin*, 351
 - Alcalóides, 336
 - Aleurona, camada de, 287
 - célula da, 289
 - na síntese de α -amilase induzida pela giberelina, 289
 - Alface, semente de, fotorreversibilidade V-VE da germinação de, 425
 - Alfafa, 344
 - Alga(s), 308
 - *Chlorella*, 309
 - marinha, 321
 - vermelhas, 370
 - Algodão, 344
 - Algodoeiro, 313
 - Allium*
 - *cepa*, 418
 - *sativum*, 418
 - Alongamento caulinar, 284
 - Alpiste, 341
 - Alternaria citri*, 316
 - Alumínio, 70
 - Amadurecimento de frutos, 323
 - Amaranthaceae, 403
 - Amaranthus*
 - *caudatus*, 395
 - *retroflexus*, 397
 - *viridis*, 403
 - Amaranto, 395
 - Amburana cearensis*, 405
 - Amidatransferase de glutamina:2-oxoglutarato, 100
 - Amido, 161, 206, 413
 - estrutura da molécula de, 163
 - síntese de, 162, 410
 - Amilopectina, 163
 - Amiloplastos, 414
 - Amilose, 163
 - Amina oxidase, 221
 - Aminoácido(s), 206
 - ácidos, 103
 - aromáticos, família dos, 108
 - básicos, 103
 - biossíntese de, 106
 - família, 106
 - da ribose-5-fosfato, 112
 - do aspartato, 106
 - do 3-fosfoglicerato, 111
 - do glutamato, 109
 - do piruvato, 111
 - dos aminoácidos aromáticos, 108
 - histidina, 261
 - metionina, 311
 - síntese de, 101
 - Aminoetoxivinil glicina, 268, 311, 348
 - Aminotransferase(s), 105
 - da alanina, 105
 - de serina, 106
 - do aspartato, 105
 - Amônia, 2, 94, 150, 280, 315
 - Anacardiaceae, 403
 - Anaerobiose, 20
 - Ananas comosus*, 313, 377
 - Anatomia tipo Kranz, 154
 - Ancimidol, 282
 - Anel
 - de porfirina, 128
 - indólico, 224
 - pirrólico, 336
 - purínico das citocininas, e cadeias laterais possíveis, 255
 - Angiosperma(s), 31, 90, 155
 - arbóreas, 322
 - parasita, 401
 - Annonaceae, 339
 - Anona crassiflora*, 405
 - Antioxidantes, 389
 - Antocianinas, 412
 - Antranilato, sintase do, 109
 - Apoplasto, 20, 183, 226, 415
 - Apoproteína, 352, 426
 - PHYA, 431
 - PHYB1, 431
 - Aquênios, 241
 - Arabidopsis thaliana*, 254, 263, 317, 363, 407
 - mutantes de, 334, 389
 - Arabinogalactanos, 348
 - Arabinosidase, 394
 - Araceae, 339
 - Araucaria angustifolia*, 346, 404
 - Arecaceae, 403
 - Argila, 17
 - Arginina, 103, 110
 - Aristolochiaceae, 339
 - Arracia xanthorrhiza*, 416
 - Arroz, plantas de, crescimento caulinar de, cultivadas sob alagamento, 319
 - Asparagina, 103
 - enzima aminotransferase da, 104
 - metabolismo de, 105
 - sintetase da, 102
 - Aspartato, 106
 - aminotransferase do, 105, 155
 - cinase do, 107
 - família do, 106
 - Aspergillus*
 - *clavatus*, 309
 - *flavus*, 309
 - Aspirina, uso de, 340
 - Asteraceae, 403, 416
 - ATP, 115, 117
 - Aurora, 436
 - Auxina(s), 217-249, 313, 377
 - crescimento integrado entre caules e raízes promovido pela produção, transporte e efeito das citocininas e, 269
 - distribuição assimétrica da, em ápices de coleóptiles de milho após a estimulação fototrópica, 344
 - histórico da descoberta, 217
 - interação entre, e citocininas na indução de raízes e calos, 268
 - mecanismo de ação, 245
 - expressão gênica, 247
 - percepção, 245
 - transdução, 246
 - metabolismo do ácido indolilacético, 220
 - biossíntese, 220
 - conjugação, 222
 - degradação, 223
 - naturais e sintéticas, 219, 242
 - transporte polar das, 224
 - teoria quimiosmótica, 226
 - Auxinas, efeitos fisiológicos das, 229
 - abscisão foliar, 243
 - ação herbicida de auxinas sintéticas, 244
 - continuidade do crescimento, 232
 - diferenciação celular, 234
 - desenvolvimento
 - de flores e frutos, 240
 - do eixo caulinar, 236
 - formação do gancho apical, 237
 - quebra da dominância apical e crescimento da gema axilar, 236
 - radicular, 238
 - divisão, crescimento e diferenciação celular, 229
 - hipótese do crescimento ácido, 231
 - Aveia, 342
 - Azolla caroliniana*, 310
 - Azotobacter chroococcum*, 402
- ## B
- Bactérias, 308
 - Balanço
 - auxina/citocinina e o desenvolvimento vegetal, 268
 - hídrico foliar, 304
 - Baseallaceae, 416
 - Begonia evasiana*, 409
 - Benzeno, 5
 - Benzilaminopurina, 252
 - Benzoato de sódio, 312
 - Bertholletia excelsa*, 403
 - Beta vulgaris*, 418
 - Beterraba, cultura de, 434
 - B-2,3-glucanase, 394
 - Bidens pilosa*, 379, 402
 - Biologia molecular, estudos de, 372

- Biossíntese
 - de aminoácidos, 106
 - - família, 106
 - - - da ribose-5-fosfato, 112
 - - - do aspartato, 106
 - - - do 3-fosfoglicerato, 111
 - - - do glutamato, 109
 - - - do piruvato, 111
 - - - dos aminoácidos aromáticos, 108
 - de polissacarídeos de parede, 232
 Biotecnologia
 - citocininas e, 275
 - vegetal, 250
 Bissulfito, 315
 Bombacaceae, 403
 Bombas de prótons, 189, 227
 Boraginaceae, 403
 Boro, 42, 61, 62
Botrytis cinerea, 316
Brachiaria
 - *brizantha*, 305, 393
 - - sementes de, 401
 - *decumbens*, 393
Brassica
 - *chinensis*, 333
 - *napus*, 333
 Brassinosteróides, 333
 - biossíntese, 333
 - funções, 333
 Bromélia(s), 314
 - epífita, 253
 Bromeliaceae, 313
- C**
- Cabreúva, 390
 Cadeia
 - de transporte de elétrons, 199
 - tetrapirrólica, 427
 Cádmiu, 315
 Caesalpinhiaceae, 403
Calathea allouia, 417
 Cálcio, 42, 353
Callitriche platycarpa, 319
 Calmodulinas, 58, 348
 Calose, 182
 Calvin, ciclo de, 99
 Calvin-Benson, ciclo de, 142
 Câmbio vascular, 179
 Campesterol, 333
 Canais iônicos, 353
 Canela-sassafrás, 401
Cannabis sativa, 288
 Capacidade de campo, 17
 Capim-braquiária, 393
 Capim-massambará, 401
Carapa guianensis, 403
 Carbamil fosfato, 110
 Carboidrato(s), 389
 - metabolismo dos, de reserva, 413
 - palatinose, 414
 - produção, distribuição e armazenamento de, em plantas herbáceas perenes com órgãos de reserva, 415
 - síntese de, 117
 Carbono, 42
 - dióxido de, 9, 26
 - fluxo de, na célula, 199
 - - ciclo, 202
 - - - cadeia de transporte de elétrons, 203
 - - - dos ácidos tricarbóxicos ou ciclo de Krebs, 202
 - - fermentação, 205
 - - fluxo respiratório varia com o estado fisiológico da célula, 206
 - - glicólise, 199
 - - via da ubiquinona ou via alternativa de transporte de elétrons, 204
Carica papaya, 399
 α -caroteno, 129
 β -caroteno, 129
 Carotenóides, 128, 431
 - não-oxigenados, síntese dos, 297
 - oxigenados, síntese e clivagem dos, nos plastídeos, 298
 Carreadores móveis, 130
 Caruru, 397
 Carvalho, floresta de, 434
 Caspary, estrias de, 20, 47
Catasetum fimbriatum, 272
 Catasterona, 334
Catharanthus roseus, 399
 Caule(s), 209
 - crescimento do, de plantas de arroz cultivadas sob alagamento, 319
 - e coleóptiles, 347
Cecropia, 434
 - *glaziovii*, 397, 405
 - *obtusifolia*, 399
Cedrella odorata, 403
Ceiba alliodora, 403
 Célula(s)
 - bulbiformes, 350
 - - murchas, 350
 - - túrgidas, 350
 - companheiras, 182
 - - constituição dos elementos, 182
 - condutoras no xilema, 21
 - crivadas, 179
 - da bainha perivasculosa, 154
 - da camada da aleuroma, 289
 - das algas e bactérias fotossintetizantes, 119
 - de aleurona, 287
 - de transferência, 182
 - do mesófilo, 99, 156, 415
 - do parênquima
 - - do floema, 186
 - - lacunoso, 120
 - - vascular, 180
 - epidérmicas, 350
 - floemáticas, 414
 - guardas, 28, 120, 302
 - maduras, 256
 - meristemáticas, 376
 - motoras, 349, 352
 - - dos pulvinos, 353
 - não-lignificadas, 324
 - parenquimáticas, 414
 - subsidiárias, 32, 120
 - vegetal, 252
 Célula-dreno, 180
 Célula-fonte, 180
 Celulase, 394
 Celulose, 181, 206
 - microfibrilas de, 394
 Centeio, 373
 Centros de ferro-enxofre, 133
Cercospora ricicola, 297
 Cereais, 373
 Cestose, 419
 Cestotriose, 415
 Cevada, 287, 289
Chenopodium
 - *album*, 401
 - *rubrum*, 372
Chlamydomonas reinhardtii, 362
 Choque térmico, 270, 374
 - proteínas de, 389
Chorisia speciosa, 405
Chrysanthemum, 373
 - *morifolium*, 372
 Cianeto de potássio, 315
 Cianobactérias, 370
Cichorium intybus, 418
 Ciclina(s), 29, 261
 Ciclo(s)
 - celular, 284
 - da síntese do glutamato, 101
 - - assimilação de NH_4^+ e o, 100
 - de divisão celular, 229
 - de Krebs, 106, 201, 202, 393
 - de Yang, 311
 - do nitrogênio, 76
 - dos ácidos tricarbóxicos, 199
 - fotossintético redutivo C_3 , 142
 Ciclo de Calvin-Benson, 99, 143
 Ciclo-hexanotriônicas, 280
 Cinase(s)
 - de γ -glutamil, 110
 - do aspartato, 107
 - do N-acetil-glutamato, 110
 - tipo MAPK, 246
 Cinetina, 250
 Cinógrafo, 351
 Cistationina- γ -síntase, 108
 Cisteína, 55, 106, 113
 Citocinina(s), 206, 250-278, 313, 376
 - altas concentrações de, 410
 - anel purínico característico das, e cadeias laterais possíveis, 255
 - biossíntese de, 252, 254
 - crescimento integrado entre caules e raízes promovido pela produção, transporte e efeito das, e auxina, 269
 - dinâmica das, na célula e no vegetal como um todo, 252
 - - conjugação e hidrólise, 255
 - - oxidação, 257
 - - transporte, 260
 - e biotecnologia, 275
 - estrutura das principais, que ocorrem nos tecidos vegetais, 251
 - integração de alguns dos efeitos das, 267
 - interação entre auxina e, na indução de raízes, calos e caules, 268
 - modo de ação das, 260
 - - alvos primários, 263
 - - - diferenciação celular, 263
 - - - divisão celular, 263
 - - - estabelecimento de drenos, 264
 - - - fotomorfogênese, 266
 - - - retardamento da senescência foliar, 264
 - - percepção e transdução de sinal, 261
 - perspectivas, 276
 - principais tipos de, e seus conjugados, 256
 - receptor de, expressão do gene que codifica um, em levedura mutante deficiente em receptores do tipo histidina quinase, 262
 - ribosídicas, 255

- sintéticas, estrutura das principais, 252
- Citocininas, efeitos das, 266
- balanço auxina/citocinina e o desenvolvimento vegetal, 268
- na interação, 267
- - com outras classes hormonais, 267
- - entre os vegetais e o ambiente, 272
- - - luz, 272
- - - microorganismos, 274
- - - nutrientes minerais, 272
- - - temperatura, 273
- Citocromo b_{557} , 97
- Citoplasma, 226, 280, 427
- Citossol, 99, 184, 415
- acidose do, 205
- Citrulina, 103
- Citrus, 321
- *deliciosa*, 292
- *reticulata*, 292
- *vokameriana*, 321
- Clima temperado, regiões de, 322, 436
- Climatério, 211
- Clivagem oxidativa, 298
- Cloreto, 63
- Cloro, 42
- Clorofila(s), 116, 206, 314, 412, 433
- baixo acúmulo de, 431
- Cloroplasto(s), 24, 99, 121, 252, 346
- desenvolvimento de, 426
- enzima do, 101
- CO₂, mecanismos fotossintéticos de concentração de, 154
- destino dos produtos da fotossíntese, 161
- - controle da alocação de carbono entre sacarose e amido, 165
- - síntese, 164
- - - de amido nos cloroplastos, 162
- - - de sacarose no citoplasma, 164
- mecanismo, 154
- - C₄, 154
- - - ciclo bioquímico C₄, 155
- - - regulação do ciclo C₄, 158
- - MAC, 158
- - - e a sobrevivência das plantas, 160
- - - via bioquímica MAC, 159
- PEP carboxilase, 160
- - regulação da PEPcase, 160
- Cobalto, 42
- Cobre, 42, 315
- Coffea* sp., 418
- Coleóptile(s), 218, 287, 422
- caules e, 347
- de aveia, fototropismo em, desenvolvidos no escuro, 342
- Colocasia esculenta*, 418
- Commelina virginica*, 402
- Complexo(s)
- ATP sintase, 130
- citocromo b_6/f , 130
- de captação de luz, 127
- de Golgi, 181, 245
- estomático, 32, 121
- proteína-molibdênio, 97
- supramoleculares nas membranas dos tilacóides, estrutura e regulação, 137
- Compostos
- de fosfônio, 280
- fenólicos, 338, 405
- inorgânicos, 315
- nitrogenados, 272
- tóxicos, 320
- Comunidades vegetais, fotossíntese e produtividade em, 173
- fotossíntese, 174
- - e produtividade econômica das culturas, 176
- - por unidade de área foliar e produtividade, 174
- produtividade e arquitetura do dossel, 175
- taxas de respiração celular e produtividade, 174
- Constante
- de Planck, 125
- dielétrica, 5
- Controle
- da respiração nas plantas por fatores internos, 212
- - disponibilidade de substrato, 212
- - fermentos e lesões, 214
- - quantidade de oxigênio, 213
- - temperatura, 213
- hormonal, 394
- Copaifera langsdorffii*, 405
- Corantes viologênio biperidilium, 137
- Corrente
- de infecção, 82
- transpiratória, 180
- Cotilédones, 103, 422
- CR P680, 132
- Crassuláceas, metabolismo ácido das, 158
- Craterostigma plantagineum*, 303
- Crepúsculo, 436
- Crimipellis pernicioso*, 274
- Criptocromo, 369, 422, 433
- moléculas de, 433
- Cromatografia
- do tipo HPLC, 270
- gasosa, 270
- Cromóforo, 371, 430
- do fitocromo, 427
- Croton*
- *floribundus*, 399
- *urucurana*, folhas de plantas de, curvaturas das, provocada pelo tratamento com Ethrel, 320
- Cucumis*
- *anguria*, 395, 396
- - gavinhas de, 349
- - sementes de, 388
- - - germinação sob luz branca e no escuro de, provenientes de frutos amadurecidos em condições de dias curtos, 396
- *sativus*, 288, 396, 423
- Cucurbita*, 282
- *maxima*, 316
- Cucurbitaceae, 284, 314, 348
- Cultura
- de beterraba, 434
- de embriões *in vitro*, 404
- de trigo, 434
- Curvatura fototrópica, 437
- Cutículas, 350
- Cyclantaceae, 339
- Cynara scolymus*, 418
- Cyperus rotundus*, 401
- D**
- Dahlia*, 411
- Daninhas, 434
- Daucus carota*, 418
- Deficiência
- de água no solo, 16
- de boro, 62
- de cobre, 63
- de enxofre, 61
- de ferro, 64
- de fitocromo, 430
- de manganês, 64
- de níquel, 67
- de potássio, 58
- hídrica, 168
- Dendrobium*, 274, 374
- *nobile*, 273
- Descarboxilação oxidativa do ácido indolil-3-acético, 224
- Desenvolvimento
- de flores e frutos, 240
- do eixo caulinar, 236
- radicular, 238
- Desfolhantes, 315
- Desidratação e tolerância a dessecação, 388
- Desidratase da treonina, 107
- Desidrogenase
- da homoserina, 108
- da homoserina-A, 107
- do glutamato, 100
- - semi-aldeído, 110
- Dessecação, desidratação e tolerância a, 388
- Diacilglicerol, 352
- Diagravitropismo, 342
- Diazociclopentadieno, 312
- Diclorofenildimetiluréia, 37
- Dicotiledôneas, 59
- Dictiostelium mucoroides*, 321
- Diferenciação celular, 234
- Difusão, 8
- Diidropicolinato, sintase do, 108
- Diidroxiacetona fosfato, 201
- Diidrozeatina, 251
- Dionaea*, 354
- Dioscorea*, 417
- *alata*, 419
- *bulbifera*, 417
- *delicata*, 412
- *olfersiana*, 417
- *rotundata*, 419
- sp., 418
- Dioscoreaceae, 419
- Dióxido de carbono, 9, 26
- e luz, 37
- Diplopia natalensis*, 316
- Diquat, 137
- Diuron, 137
- Divisão celular, 263
- DNA
- proteínas ligadoras de, 363
- recombinante, técnicas de, 411
- replicação de, 268
- Doença, organismos causadores de, 321
- Donnan, espaço livre de, 46, 184
- Dormência, 318
- de sementes, 426
- - classificação dos principais tipos de, 407
- - principais eventos associados a quebra da, 406
- estados de, 405
- extra-embriônica, 405
- física, 405
- fisiológica, 405
- genes de, 406
- mecânica, 405

- morfológica, 405
 - primária, 387
 - química, 405
 - Drenos, 264
 - Drosera*, 354
 - Droseraceae, 354
 - Drosophila melanogaster*, 358
- E**
- Ecofisiologia e respiração, 215
 - Ectodesmas, 53
 - Ectomicorizas, 71
 - EDTA, 347
 - Efeito Warburg, 149
 - Eichhornia crassipes*, sementes de, 401
 - Einstein-Stark, lei da equivalência fotoquímica de, 125
 - Elementos
 - crivados, constituição dos, 181
 - dos tubos crivados, 179
 - minerais, 41
 - - essenciais, 42
 - - nas plantas, 41
 - Elétrons, transporte cíclico de, 136
 - ELISA, ensaio, 270
 - Embaúba, 397
 - sementes de, 434
 - Embebição, 389
 - Embolia no xilema, 26
 - Embrião(ões), 290, 386
 - cultura de, *in vitro*, 404
 - imaturos, 388
 - Endo- β -mananase, 394
 - Endocarpo, 405
 - Endoderme, 21, 48
 - Endosperma, 386
 - amiláceo, 287
 - apical, 394
 - mobilização de reservas de, 286
 - solutos de, 287
 - Endotal, 315
 - Energia
 - de excitação eletrônica, 125
 - dos fótons de luz, 125
 - química, conversão da luz em, 123
 - - como corrente de partículas, 124
 - - como fenômeno ondulatório, 123
 - - e pigmentos, absorção e destino da energia de excitação eletrônica, 125
 - - energia que impulsiona a fotossíntese, 123
 - Envelope, 122
 - Enxofre, 42
 - assimilação do, 113
 - deficiência de, 61
 - Enzima(s)
 - aminotransferase da asparagina, 104
 - asparaginase, 104
 - β -glucuronidase, 428
 - ciclases, 280
 - cinase, 160
 - desidrogenase do glutamato, reação catalisada pela, 100
 - digestivas, 354
 - dioxigenases, 280
 - do cloroplasto, 101
 - *ent*-copalil difosfato sintase, 281
 - *ent*-kaureno sintase, 281
 - frutose-1,6-bisfosfatase, 164
 - GOGAT, 98
 - GS, 98
 - hidrolíticas, 286
 - isopentenil transferase (IPT), 254, 276
 - málica, 156
 - mitocondriais, 393
 - NADP-malato desidrogenase, 155
 - P450 mono-oxigenases, 280
 - pirofosforilase de adenosina-difosfato-glicose, 414
 - piruvato fosfato dicinase, 172
 - redutase, 96
 - - do nitrato, 96
 - - do nitrito, 97
 - RNi, 98
 - sintetase da glutamina, 100
 - superóxido dismutase, 137
 - zeatina-O-glicosiltransferase, 257
 - Epicótilo, 309
 - Epiderme, 184
 - adaxial, 350
 - Epinastia, 316
 - Epinatismo, 349
 - Epoxidação, reações de, 299
 - Epoxidase da zeaxantina, 299
 - Equação de van't Hoff, 13
 - Equilíbrio hídrico, 168
 - Equisetum hyemale*, 310
 - Erythrina speciosa*, 405
 - Eritrose-4-fosfato, 106
 - Ervilha, plântulas estioladas de, 309
 - Erwinia rhapontici*, 414
 - Escherichia coli*, 253, 270
 - Esclerênquima, 352
 - Escopolamina, 419
 - Escototropismo, 345
 - Espaço(s)
 - intercelulares do mesófilo foliar, 168
 - livre, 46
 - - de água, 46
 - - de Donnan, 46, 184
 - subestomático, 28
 - Espectro eletromagnético, 123
 - Espectrofotometria, 428
 - Espectrometria de massas, 270
 - Espermidinas, 334
 - Esperminas, 334
 - Esquema Z, 131
 - Estações do ano, 367, 436
 - Estado(s)
 - de dormência, 405
 - fotoestacionário do fitocromo, 396
 - líquido-cristalino, 392
 - nutricional, 396
 - Estaquiose, 183
 - Estatólitos, 345
 - Estelo, 19
 - Éster(es), 326
 - metílico, 296
 - Esterilidade masculina, 321
 - Estiagem, plantas sob, 415
 - Estímulo(s)
 - ambientais, 349
 - elétricos, 353
 - gravitacional, 346
 - luminoso, 432
 - tigmônástico, 354
 - Estolões, 345
 - Estômato(s), 30, 120
 - câmara subestomática, 28, 32
 - fisiologia dos, 31
 - - caracterização geral dos estômatos, 31
 - - controle do movimento estomático, 36
 - - - água e temperatura, 36
 - - - dióxido de carbono e luz, 37
 - - mecanismos que regulam o movimento estomático, 33
 - poro de, 32
 - Estresse
 - de alagamento, 349
 - hídrico, 31, 155, 389
 - - temporário, 400
 - nutricional, 374
 - salino, 301
 - Estrias de Caspary, 20, 47
 - Estrigol, 401
 - Estroma, 122
 - Estrutura
 - da máquina fotossintética, 119
 - - cloroplastos, 121
 - - folhas, 119
 - Etanol, 5, 207
 - Ethephon, 312
 - Ethrel, 312
 - curvatura das folhas de plantas de *Croton urucurana* provocada pelo tratamento com, 320
 - reação de liberação do etileno a partir do, 312
 - Ethylene diamine tetraacetyc acid* (v. EDTA)
 - Etileno, 90, 239, 308-332, 377
 - biossíntese e inativação, 310
 - - aplicação de fitoreguladores, 313
 - - - ácido abscísico, 313
 - - - auxina, 313
 - - - citocinina, 313
 - - - etileno, 313
 - - - gibberelina, 313
 - - fatores bióticos e abióticos, 314
 - - - alagamento, 314
 - - - CO₂, 314
 - - - ferimentos mecânicos, 315
 - - - infecção por patógenos, 316
 - - - luz, 314
 - - - oxigênio, 314
 - - - seca, 315
 - - - substâncias químicas, 315
 - - - temperatura, 314
 - histórico da descoberta do, 308
 - mecanismo de ação, 316
 - modelo hipotético de sinalização do, em *Arabidopsis*, 317
 - ocorrência do, 309
 - proteínas receptoras de, 323
 - reação de liberação do, a partir do Ethrel, 312
 - sensibilidade ao, 328
 - transporte, 316
 - - via de biossíntese do, e ciclo de Yang, 311
 - Etileno, principais funções nos vegetais, 318
 - crescimento e diferenciação, 319
 - - da parte aérea, 319
 - - - abertura do gancho subapical, 319
 - - - abscisão, 327
 - - - amadurecimento de frutos, 323
 - - - crescimento, 319
 - - - expansão e epinastia de folhas, 320
 - - - indução floral e expressão sexual, 320
 - - - lenticelas hipertrofiadas, 320
 - - - senescência, 321
 - - - tecidos secretores, 321
 - - de raízes, 328

- - - adventícias, 328
 - - - aerênquima, 329
 - - - crescimento, 328
 - - - formação de pêlos absorventes, 328
 - divisão e expansão celular, 318
 - dormência, 318
Eucalyptus, 288
 Eucariotos, 437
Euphorbia pulcherrima, 373
 Euphorbiaceae, 403
Euterpe edulis, 403
 Evaporação periestomática, 28
 Evocação floral, 378
 Exoderme, 45
 Expansinas, 232, 394
 Experimentos de Went, 343
 Expressão gênica, 303
 - regulação da, 432
 Extrato vegetal, 250

F

Fabaceae, folíolos de, 344
 Família Droseraceae, 354
 Farnesil pirofosfato, 281
 Fator(es)
 - ambientais, 367
 - - luz, 368
 - - temperatura, 373
 - - umidade, 374
 - de transcrição PIF3, 358
 - endógenos, 374
 - - açúcares, 375
 - - hormônios vegetais, 376
 - - - ácido abscísico, 377
 - - - auxinas, 377
 - - - citocininas, 376
 - - - etileno, 377
 - - - giberelinas, 377
 - - nutrição, 374
 Fechamento
 - hidroativo, 36
 - hidropassivo, 36
Feedback negativo, 276
 Feijoeiro, 351
 - folhas primárias de, nictinastismo em, 351
 - pulvinos de, 352
 Feixes condutores, 184
 Felogênio, 86
 Fenilalanina, 106
 - amônia-liase, 339
 Feniluréias, 251
 Fenóis protetores contra UV, 362
 Fenômeno da compensação de temperatura, 357
 Fenótipo do mutante *aura* de tomateiro, 431
 Feofitina, 132
 Ferimentos mecânicos, 312
 Fermentação, 201
 Ferredoxina, 100, 134
 Ferredoxina-tiorredoxina redutase, 148
 Ferro, 63, 315
 - deficiência de, 64
 Fertilidade, 257
 Fertilização, 386
 Fick, lei de, 8, 29
Ficus
 - *insipida*, 399
 - *sycomurus*, 308
 Filotaxia, 366

Fitocromo(s), 206, 369, 422, 426
 - cromóforo do, 427
 - deficiência de, 430
 - do tipo I, 371
 - do tipo II, 371
 - e controle do desenvolvimento, 422
 - descoberta do fitocromo, 422
 - fitocromo: uma família gênica, 425
 - localização e expressão dos fitocromos, 428
 - mecanismos de ação, 431
 - - modificação da permeabilidade das membranas, 432
 - - regulação da expressão gênica, 432
 - - mutações fotomorfológicas, 430
 - - propriedades físico-químicas dos fitocromos, 426
 - - - espectrofotométricas, 427
 - - - molécula dos fitocromos, 426
 - - respostas ao fitocromo e quantidade de luz, 428
 - estado fotoestacionário do, 396
 - estrutura do, formado por um dímero protéico, 426
 - formas fotorreversíveis do, 425
 - importância ecofisiológica dos, 433
 - controle da germinação de sementes fotoblásticas, 434
 - desestiolamento de plântulas recém-germinadas, 435
 - detecção da aurora e do crepúsculo e sincronização do relógio biológico, 436
 - modulação do crescimento e forma de planta iluminadas, 435
 - percepção fotoperiódica, 436
 - interação entre fluência e comprimento de onda da fonte luminosa nas respostas ao, 429
 - modos de ação do, durante a inibição do alongamento do hipocótilo e regulação da germinação de sementes, 430
 - subunidades protéicas dos, 427
 - tipo A, 431
 - tipo B, 266, 426
 - mecanismo de ação do, na ativação da expressão de genes regulados por luz, incluindo prováveis componentes do mecanismo central do relógio circadiano, 360

Fitoeno

- dessaturase do, 298
 - sintase do, 298
 Fitol, 128
 Fitoplâncton, 160
 Fitormônio(s), 219, 273, 348
 Fitorreguladores, aplicação de, 313
 - ácido abscísico, 313
 - auxina, 313
 - citocinina, 313
 - etileno, 313
 - giberelina, 313
 Fixação do nitrogênio, 89
 Flavina adenina dinucleotídeo, 260
 Flavonóides, 206
 Flavoproteína, 97, 343
 Fleano, 419
 Floema, 21, 45, 102, 338, 415
 - mobilidade de íons e solutos no, 54
 - transporte no, 179-197
 - carregamento e descarregamento do floema, 185

- constituição dos elementos crivados e células companheiras, 181
 - - células companheiras, 182
 - - elementos crivados, 181
 - - o que é transportado, 192
 - - - açúcares, 192
 - - - outros elementos transportados, 192
 - - saída de sacarose, 193
 - - transporte de sacarose, 188
 - - - bombas de prótons, 189
 - - transporte fonte-dreno, 193
 - - vias apoplástica e simplástica, 183
 - - - apoplasto, 183
 - - - simplasto e plasmodesmo, 184
 - - transporte intermediário, 185
 - - visão geral, 179
 - - - do carregamento e descarregamento do floema, 190
 - - - do sistema de, 179
 Flor, representação idealizada, 381
 Floração, 366-385
 - aspectos moleculares, 381
 - controle fotoperiódico da, 369
 - de *Arabidopsis*, possíveis interações moleculares envolvidas na, transição floral controlada por várias vias gênicas, 382
 - de *Dendrobium Stardust* e *Dendrobium Second Love*, após tratamento de frio, 374
 - desenvolvimento floral, 379
 - evocação floral, 378
 - fases de desenvolvimento, 366
 - hipóteses sobre a natureza do sinal floral, 377
 - *in vitro*, 383
 - - plantas orquídeas de, 385
 - induzida fotoperiódicamente, 373, 437
 - interações moleculares envolvidas na transição floral, 382
 - perspectivas no estudo da, 385
 - tipos de respostas de, 369
 Floração, indução da, 367
 - fatores ambientais, 367
 - - luz, 368
 - - temperatura, 373
 - - umidade, 374
 - fatores endógenos, 374
 - - açúcares, 375
 - - hormônios vegetais, 376
 - - - ácido abscísico, 377
 - - - auxinas, 377
 - - - citocininas, 376
 - - - etileno, 377
 - - - giberelinas, 377
 - - nutrição, 374
 - modelo simplificado de alguns componentes da, 376
 Flores, 210
 - da vitória-régia, 350
 - masculinas, 321
 - qualidade e a longevidade das, 366
 Floresta
 - de carvalho, 434
 - tropical, 434
 Flutuações térmicas, 398
 Fluxo(s)
 - de massa, 43
 - fotossintético de elétrons e a fotoxidação da água, 128
 - - fotossistema, 132
 - - - I, 133
 - - - II, 132

- - fotoxidação da água, 133
 - iônicos, 432
 - Folha(s), 119, 209
 - compostas de Leguminosae, 351
 - de gramínea, hidronatismo em, 350
 - de malva, orientação das, em relação a posição do sol durante um dia, 345
 - de mangueira, fungos em, 274
 - de plantas, 274
 - - de *Croton urucurana*, curvaturas das, provocada pelo tratamento com Ethrel, 320
 - - de *Dendrobium*, 274
 - de tabaco, 265, 276
 - expansão e epinastia de, 320
 - lanceoladas e epinásticas, 271
 - primárias de feijoeiro, nictinatismo em, 351
 - senescentes, 260
 - Folíolos, 432
 - da Fabaceae, 344
 - Força
 - de tensão, 7
 - de Van der Waals, 4
 - motiva de prótons, 51
 - Formigas, 402
 - Fosfatases, 161
 - Fosfatidil inositol, 352
 - bifosfato, 352
 - metabolismo de, 353
 - Fosfoenol-piruvato, 108
 - Fosfoglicerato, 106
 - 3-fosfoglicerato, 141
 - família do, 111
 - Fosfoglicoisomerase, 164
 - Fosfoglicolato, 142
 - fosfatase, 150
 - 2-fosfoglicolato, 141
 - Fosfoglicomutase, 162
 - Fosfolípidios, 48, 392
 - Fosfônio, compostos de, 280
 - Fósforo, 42
 - Fotodormência, 434
 - Fotofosforilação, 130, 134
 - não cíclica, cíclica e pseudocíclica, 135
 - Fotomorfogênese em plantas, 421-438
 - fitocromo e controle do desenvolvimento, 422
 - - descoberta do fitocromo, 422
 - - fitocromo: uma família gênica, 425
 - - localização e expressão dos fitocromos, 428
 - - mecanismos de ação, 431
 - - - modificação da permeabilidade das membranas, 432
 - - - regulação da expressão gênica, 432
 - - mutações fotomorfogênicas, 430
 - - propriedades físico-químicas dos fitocromos, 426
 - - - espectrofotométricas, 427
 - - - molécula dos fitocromos, 426
 - - respostas ao fitocromo e quantidade de luz, 428
 - fitocromos, importância ecofisiológica dos, 433
 - - controle da germinação de sementes fotoblásticas, 434
 - - desestiolamento de plântulas recém-germinadas, 435
 - - detecção da aurora e do crepúsculo e sincronização do relógio biológico, 436
 - - modulação do crescimento e forma de planta iluminadas, 435
 - - percepção fotoperiódica, 436
 - fotomodulação do desenvolvimento pela luz azul, 437
 - luz nos ambientes naturais, 433
 - Fotonastias, 422
 - Fótons, 124
 - Fotoperiodismo, 422
 - interação entre relógio circadiano e, 364
 - Fotorreceptor(es), 421
 - características importantes dos, que ajustam o relógio circadiano, 360
 - de luz na banda do UVB, 422
 - esquema da ação cooperativa dos, 372
 - fitocromo e criptocromo, 359
 - UV-B, 369
 - Fotorrespiração
 - e o ciclo C_2 , 149, 150
 - - fatores que afetam as taxas de fotorrespiração, 152
 - - papel da fotorrespiração, 153
 - processo de, 104
 - Fotorreversibilidade, 424
 - V-VE da germinação de sementes de alface, 425
 - Fotossíntese, 114-178, 207
 - conversão da luz em energia química, 123
 - - luz, 123
 - - - como corrente de partículas, 124
 - - - como fenômeno ondulatório, 123
 - - - e pigmentos, absorção e destino da energia de excitação eletrônica, 125
 - - - energia que impulsiona a fotossíntese, 123
 - estrutura da máquina fotossintética, 119
 - - cloroplastos, 121
 - - folhas, 119
 - etapa fotoquímica da, 117
 - líquida, 167
 - processo, 115
 - - de oxidação-redução, 115
 - - em duas etapas, 116
 - Fotossíntese, aspectos ecofisiológicos associados à, 166
 - eficiência de uso do nitrogênio, 173
 - eficiência no uso da água, 169
 - fotossíntese líquida, 167
 - - e disponibilidade de CO_2 , 167
 - produtividade em comunidades vegetais, 173
 - - fotossíntese, 174
 - - - e produtividade econômica das culturas, 176
 - - - por unidade de área foliar e produtividade, 174
 - - produtividade e arquitetura do dossel, 175
 - - taxas de respiração celular e produtividade, 174
 - respostas fotossintéticas
 - - à luz, 170
 - - - plantas de sol e de sombra, 171
 - - à temperatura foliar, 172
 - Fotossíntese, metabolismo do carbono na, 140
 - a rubisco, 143
 - fotorrespiração e o ciclo C_2 , 149
 - - ciclo C_2 , 150
 - - fatores que afetam as taxas de fotorrespiração, 152
 - - papel da fotorrespiração, 153
 - mecanismos fotossintéticos de concentração de CO_2 , 154
 - - destino dos produtos da fotossíntese, 161
 - - mecanismo, 154
 - - - C_4 , 154
 - - - MAC, 158
 - - PEP carboxilase, 160
 - o ciclo C_3 (Ciclo de Calvin-Benson), 143
 - - autocatalítico, 145
 - - balanço energético, 147
 - - etapas do, 144
 - - regulação do, 147
 - regulação, 147
 - - da rubisco, 147
 - - das enzimas da fase regenerativa do ciclo C_3 , 148
 - Fotossíntese, quando os pigmentos absorvem luz, 126
 - complexos supramoleculares nas membranas dos tilacóides, estrutura e regulação, 137
 - fluxo fotossintético de elétrons e a fotoxidação da água, 128
 - - fotofosforilação, 134
 - - - não cíclica, cíclica e pseudocíclica, 135
 - - fotossistema, 132
 - - - I, 130, 133
 - - - II, 132
 - - fotoxidação da água, 133
 - pigmentos fotossintéticos, 128
 - transporte de elétrons e herbicidas, 137
 - Fototaxia, 362
 - Fototropinas, 422, 437
 - Fototropismo, 217, 341, 422
 - curva típica de resposta a fluência para o, 343
 - distribuição assimétrica da auxina difusível após a estimulação fototrópica, 344
 - em coleóptiles de aveia desenvolvidos no escuro, 342
 - proteínas associadas ao, 422
 - Fotoxidação da água, 128
 - Fruto(s), 210
 - amadurecimento de, 323
 - carnosos, sementes de, 323
 - climatéricos, 314, 325
 - não-climatéricos, 324
 - secos, 324
 - Frutose, 188, 415
 - 1,6-bisfosfato, 201
 - 2,6-bisfosfato, 165
 - Frutose-6-fosfato, 162
 - Fumarato, 202
 - Fuminho, 389
 - Funaria polymorpha*, 310
 - Fungo(s), 308
 - *Cercospora risicola*, 297
 - *Crinipellis perniciosa*, 274
 - em folha de mangueira, 274
 - *Gibberella fujikuroi*, 279
 - micorrízico, 402
- ## G
- Galinsoga parviflora*, 403
 - Gancho apical, 237
 - Gavinhas de *Cucumis anguria*, 349
 - Geadas, 312
 - Gelatina, 218
 - Gemas, 267
 - caulinares, 267
 - dormência de, 305
 - florais, 436
 - Gene(s)
 - α -amilase, 289
 - AG-MYB, 288
 - ap1, 383

- arr do tipo A, 261
 - *AtIPT*, 254
 - *AtIPT2*, 254
 - *atipt4*, 254
 - *ccal*, 364
 - *cel1*, 327
 - *cel2*, 327
 - *cel5*, 327
 - *cel7*, 327
 - *cki1*, 262
 - *co*, 382
 - codificadores de canais de potássio, 353
 - *CRY1*, 437
 - *CRY1a*, 437
 - *CRY1b*, 437
 - *CRY2*, 437
 - *cyd3*, 263
 - de *Arabidopsis*, 317
 - de CKO, 257
 - de dormência, 406
 - *EIN4*, 317
 - *emf*, 381
 - *ERS1*, 317
 - *ERS2*, 317
 - *ETR2*, 317
 - *fca*, 382
 - *flc*, 382
 - fotossintéticos, 356
 - *fpa*, 382
 - *fri*, 382
 - *frq*, 359
 - *ft*, 382
 - *fve*, 382
 - *fwa*, 382
 - *gi*, 382
 - homeóticos, 267, 381
 - *id*, 382
 - inibidores de proteinases II ou *pin2*, 306
 - *ipt*, 253
 - LEA, 389
 - *lfy*, 382
 - *lhy*, 364
 - MADS box, 383
 - nucleares, 427
 - para α -amilase, 287
 - *PHOT 1*, 437
 - *PHOT 2*, 437
 - *PHYA*, 425
 - *PHYB*, 425
 - *PHYC*, 425
 - *PHYD*, 425
 - *PHYE*, 425
 - *ptom5*, 312
 - *ptom13*, 312
 - regulados por luz, 360
 - *rolC*, 257
 - *tmr*, 253
 - *tomlox b*, 326
 - *vrn*, 382
 - *ZOG1*, 258
 - *ZOX1*, 258
 - Gene-repórter GUS, 428
 - Geranil pirofosfato, 281
 - Geranilgeranil
 - difosfato, 281
 - pirofosfato, 281
 - Germinação, 386-408
 - capacidade relativa de, de algumas espécies pioneiras em diferentes condições de luz, 399
 - de sementes, 425
 - de alfaca, fotorreversibilidade V-VE da, 425
 - - fotoblásticas, controle da, 434
 - - modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do hipocótilo e regulação da, 430
 - - percentagens de, 388
 - - processo de, 390
 - - controle hormonal, 394
 - - embebição, 391
 - - extensão radicular, 394
 - - metabolismo, 392
 - - terminologia e critérios, 390
 - - semente, 386
 - - desenvolvimento da, 386
 - - - controle do desenvolvimento, 389
 - - - desidratação e tolerância a dessecação, 388
 - - - etapas do, 386
 - - testes de, 404
 - Germinação, fatores que influenciam a, 395
 - ambientais, 395
 - - efeitos na fase de maturação, 396
 - - efeitos na fase de pós-dispersão, 397
 - - - fatores bióticos, 401
 - - - fatores químicos, 401
 - - - luz, 397
 - - potencial de água, 400
 - - temperatura, 398
 - intrínsecos, 402
 - - dormência, 404
 - - morfologia, 402
 - - viabilidade, 402
 - Germoplasma, variabilidade do, 45
 - *Gibberella fujikuroi*, 279
 - Giberelina(s), 230, 279-292, 313, 394
 - ativas, processos associados ao estado de equilíbrio de, 283
 - bioativas, 282
 - biossíntese, estágio, 279
 - - 1: geranilgeranil difosfato a *ent*-kaureno, 281
 - - 2: *ent*-kaureno a AG₁₂-aldeído, 281
 - - 3: AG₁₂-aldeído a giberelinas, 281
 - conjugação e inativação, 282
 - efeitos fisiológicos e aplicações, 288
 - em frutos, 290
 - mudança de fase, indução floral e determinação do sexo, 288
 - - outras aplicações, 291
 - - superação da dormência em sementes, embriões somáticos e gemas, 290
 - histórico e ocorrência, 279
 - mecanismos e modo de ação, 283
 - - alongamento e divisão celular, 283
 - - mobilização de reservas de endosperma, 286
 - - regulação do crescimento, floração e ciclo celular, 284
 - modelo proposto para a síntese de α -amilase induzida pela, na camada de aleurona da cevada, 289
 - polioidroxiladas, 282
 - síntese de, em caule de ervilha, 233
 - transporte, 282
 - Gimnospermas, 31
 - Ginseng, 419
 - *Gladiolus* sp., 411
 - Gliceraldeído 3-P, 201
 - Glicerato cinase, 152
 - Glicerolfosfato, 206
 - Glicina, 104, 150
 - descarboxilase, 150
 - Glicolípídios, 48
 - Glicólise, 106, 199
 - Glicoproteínas, 348
 - Glicose, 188, 256, 415
 - Glicose-1-fosfato, 162
 - Glicose-6-fosfato, 160
 - isomerase, 162
 - Glifosato, 315
 - Glioxilato, 105, 150
 - Glucanases, 232
 - Glucose 6P, 206
 - Glutamato, 261
 - assimilação de NH₄⁺ e o ciclo da sintase do, 100
 - desidrogenase do, 100
 - família do, 109
 - semi-aldeído, 109
 - - desidrogenase do, 110
 - sintase, 152
 - transaminase de, 105
 - Glutamina, 100
 - enzima sintetase da, 100
 - sintetase, 152
 - Glutamina:2-oxoglutarato, amidatransferase de, 100
 - Glutaciona, 55
 - Glutaciona S-transferases, 247
 - *Glycine max*, 418
 - Golgi, complexo de, 181, 289
 - *Gomphrena macrocephala*, 416
 - Gotthaus-Draper, princípios de, 125
 - Gradiente
 - de concentração de vapor de água, 29
 - de potencial eletroquímico, 50
 - de pressão de vapor, 29
 - de prótons, 133
 - Gramínea, folha de, hidronastismo em, 350
 - Gramineae, 320
 - Gravitropismo, 345
 - caules e coleóptiles, 347
 - - percepção, 347
 - - transdução e respostas, 348
 - em plantinhas de milho, 348
 - raízes, 345
 - - percepção, 345
 - - transdução e resposta, 346
 - Gutação, 23
- ## H
- *Helianthus tuberosus*, 411
 - Hemicelulose, 232
 - Herbicidas, 315
 - à base de clorato, 97
 - bipyridilium, 137
 - Herbivoria, 338
 - *Hevea brasiliensis*, 321, 403
 - *Hexose transporter*, 192
 - Hidatódios, 23
 - Hidratação, taxa de, 392
 - Hidrogênio, 42, 256
 - peróxido de, 150
 - Hidrólise, 255
 - Hidronastismo, 349
 - em folha de gramínea, 350
 - Hidrotropismo, 348
 - Hidroxilação, reações de, 251

Hidroxi-piruvato, 105
 Hill, reação de, 64
 Hiosciamina, 419
 Hipocótilo, 422
 - crescimento do, 426
 - modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do, e regulação da germinação de sementes, 430
 Hiponastismo, 349
 Hipótese
 - do crescimento ácido, 231
 - quimiostática de Mitchell, 134
 Hipoxia, 330
 Histidina, 106, 261
 - cinase, 261, 262
 Histoquímica, 428
 Holoproteína, 426
 Homoserina-A, desidrogenase da, 107
 Hormônios, 262
 - de feminilização, 314
 - esteroidais, 419
 - florais, 378
 - vegetais, 376
 - - ácido abscísico, 377
 - - auxinas, 377
 - - citocininas, 376
 - - etileno, 377
 - - gibberelinas, 377
 Hyptis
 - *brevipes*, cortes longitudinais da região apical caulinar de, 380
 - *suaevolens*, 397, 402

I

Ilex paraguariensis, 405
 - sementes de, 399
 Imunocitoquímica, 428
 Índice de área foliar, 175
 Indol, 224
 Indução floral, 288, 368
 Infecção por patógenos, 316
Inga punctata, 403
 Inibidor(es)
 - ciclo-hexanotriônicas, 280
 - de rubisco 2-carboxiarabinitol-1-fosfato, 148
 - químicos, 405
 - tipos de, 280
 Inositol
 - bifosfato, 352
 - trifosfato, 352
 - 1,4,5-trifosfato, 302
 Inseto, larvas de, 402
 Intensidade limiar da planta, 346
 Interceptação radicular, 44
 Inulina, 416, 419
 Invertase, 188
 Íon cobalto, 310
Ipomoea batatas, 418
 Irradiação com luz vermelha-extrema, 424
 Isocestose, 419
 Isocitrato, 202
 Isoleucina, 106, 111
 Isomerização *cis-trans*, 370
 Isopenteniladenina, 251, 260, 376
 Isopenteniladenosina, 251
 Isopentenilpirofosfato, 279
 Isoprenóides, 279
 2-isopropilmalato, sintase do, 111

J

Jasminum, 337

K

Kinases, 58 (v. Cinasas)
Koelreuteria paniculata, 291
 Krebs, ciclo de, 106, 201, 393

L

Lactato, 207
Lactuca sativa, 398
 L-arginina, 335
 Larvas de inseto, 402
 Lauraceae, 403
 Lavanda, sementes de, 291
Lavandula angustifolia, 291
Lecythidaceae, 403
 Leg-hemoglobina, 85
 Leguminosae, 351
 Leguminosas, 388
 Lei
 - da equivalência fotoquímica de Einstein-Stark, 125
 - da reciprocidade, 342
 - de Fick, 29
 - de Ohm, 29
 - do mínimo de Sprengel-Liebig, 41
Lemma gibba, 339
 Lenticela(s)
 - do caule de sabugueiro, 209
 - hipertrofiadas, 320
 - - número médio de, em plantas de *Croton urucurana* tratadas com Ethrel, 321
Leucaena leucocephala, 351
 Leucina, 106, 111
 Levedura mutante, 262
 L-fenilalanina, 339
 Ligninas, 206, 422
 Liliaceae, 416
 Limbo, 265, 345
 Língua-de-vaca, 395
 Linhagens mutantes, uso de, 394
 Lipídios, 206, 317
 Lipoproteínas, 348
 Lisina, 106
 Lítio, 315
 L-ornitina, 335
Ludwigia octovalvis, 400
 Luminômetro, 363
Lupinus luteus L., 294
 Luteína, 129
 Luz, 314, 368
 - ambiente rico em, 436
 - azul, 437
 - - fotomodulação do desenvolvimento pela, 437
 - branca, 397, 431
 - complexos de captação de, 127
 - direção, 422
 - monocromática, 370
 - nos ambientes naturais, 433
 - periodicidade, 422
 - plantas selvagens expostas a, 433
 - qualidade da, 396
 - - espectral, 422
 - respostas fotossintéticas à, 170

- - plantas de sol e de sombra, 171
 - solar direta, 422
 - vermelha-extrema, irradiação com, 424
Lycopersicon esculentum, 315, 430
Lycopodium phelegmaria, 310

M

MAC (Metabolismo ácido das crassuláceas, o mesmo que CAM (*Crassulacean acid metabolism*)), 31, 142
 Macieira, 290
 Macromoléculas, 336
 Macronutrientes, 42
 Magnésio, 42, 59
 Malato, 202
Malus domestica, 290
 Malva, folhas de, orientação das, em relação a posição do sol durante um dia, 345
 Mamona, 397
 Manchua, 416
 Manduirana, 351
 Manganês, 42
Mangifera indica, 274, 403
 Mangueira, 321
Manihot esculenta, 413
Marchantia polymorpha, 310
Matteuccia struthiopteris, 310
 Maxixe, sementes de, 397
 Mecanismo(s)
 - celular de transporte de auxina, 228
 - de ação das auxinas, 245
 - - expressão gênica, 247
 - - percepção, 245
 - - transdução, 246
 - de contato entre as raízes das plantas e o solo, 43
 - - difusão, 44
 - - fluxo de massa, 43
 - - interceptação radicular, 44
 - reguladores dos níveis de ácido indolilacético livre nas células vegetais, 222
 Mecanismos fotossintéticos de concentração de CO₂, 154
 - destino dos produtos da fotossíntese, 161
 - - controle da alocação de carbono entre sacarose e amido, 165
 - - síntese, 164
 - - - de amido nos cloroplastos, 162
 - - - de sacarose no citoplasma, 164
 - mecanismo, 154
 - - C₄, 154
 - - - ciclo bioquímico C₄, 155
 - - - regulação do ciclo C₄, 158
 - - MAC, 158
 - - - e a sobrevivência das plantas, 160
 - - - via bioquímica MAC, 159
 - PEP carboxilase, 160
 - - regulação da PEPcase, 160
Meliaceae, 403
 Membrana(s)
 - celular, 317
 - condutividade hidráulica da, 16
 - endoplasmática, 317
 - modificação da permeabilidade das, 432
 - peribacteróide, 81
 - plasmática, 182
Mercurialis annua, 266
 Meristema

- apical, 287, 378
 - caulinar, 372
 - vegetativo, eventos associados a transição do, em meristema floral, 380
 - floral, 321
 - em estágio avançado de desenvolvimento, 380
 - feminino, 321
 - reprodutivo em início de desenvolvimento, 380
 - vegetativo, 374
 - responsável pela formação dos primórdios foliares, 380
 - Mesófilo, 99, 188
 - células do, 99, 156, 415
 - foliar, 283
 - Metais, 56
 - fitotóxicos, 315
 - Metano, 2
 - Metanol, 5
 - Metaxilema
 - jovem, 45
 - maduro, 45
 - Metionina, 55, 106, 265
 - Metolmil, 315
 - Miconia
 - *chamiriois*, 399
 - *cinnamomifolia*, 405
 - Micorrizas arbusculares e a absorção de nutrientes, 71
 - Microfibrilas de celulose, 232, 394
 - Micronutrientes, 42
 - Microorganismos, 274, 402
 - Milho
 - distribuição assimétrica da auxina em coleóptiles de, 344
 - gravitropismo em, 348
 - plântulas de, 423
 - Mimosa
 - *pudica*, 353, 403
 - *scabrella*, 405
 - Mimosaceae, 403
 - Mimosoideae, 353
 - Mirabilida jalapa*, 403
 - Mirosinase, 393
 - Mitchell, hipótese quimiostática de, 134
 - Mitocôndrias, 115, 182
 - Mobilidade de íons e solutos no
 - floema, 54
 - xilema, 54
 - Molibdênio, 42
 - Monouron, 137
 - Monstera gigantea*, 344
 - Montenegrina, 292
 - Morte celular programada, 235, 331
 - Morus*, 321
 - Mostarda, 401
 - Movimentos em plantas, 341-355
 - nastismos, 349
 - epinastismo e hiponastismo, 349
 - hidronastismo, 350
 - nictinastismo, 350
 - termonastismo, 350
 - tigonastismo, 353
 - sinopse dos principais, 342
 - tropismos, 341
 - fototropismo, 341
 - gravitropismo, 345
 - caules e coleóptiles, 347
 - raízes, 345
 - hidrotropismo, 348
 - quimiotropismo, 348
 - tigmotropismo, 348
 - Mucor hiemalis*, 309
 - Musgos, 308
 - Mutações fotomorfogênicas, 430
 - Mutante(s)
 - *aurea* de tomateiro, fenótipo do, 431
 - COP1, 433
 - de *Arabidopsis thaliana*, 334, 389
 - de *Nicotiana plumbaginifolia*, 389
 - DET1, 433
 - *droopy*, 295
 - *flacca*, 295
 - *fri*, 430
 - *notabilis*, 295
 - *sitiens*, 295
 - *tri*, 431
 - vivíparos, 295
 - Mycobacterium paraffinicum*, 309
 - Myristicaceae, 403
- ## N
- N-acetilfosfatidiletanolamina, 392
 - N-acetil-glutamato, cinase do, 110
 - NADPH, 117
 - Narciso tazetta*, 321
 - Nastismos, 349
 - Nectandra ambigens*, 403
 - Neocestose, 419
 - Neônio, 2
 - N-Heterocíclicos, 280
 - Nicotiana*, 295
 - *plumbaginifolia*, 295
 - - mutantes de, 389
 - *sylvestris*, 411
 - *tabacum*, 411
 - Nictinastismo, 349, 350, 351
 - Níquel, 42, 66
 - deficiência de, 67
 - Nitrato, 94
 - cinética de absorção do, 96
 - no equilíbrio de cargas, 56
 - Nitrogenase, 85
 - Nitrogênio, 42, 56
 - assimilação do, 56, 100, 113
 - baixa concentração de, 410
 - eficiência de uso do, 173
 - fixação do, 76-93
 - - biológica, 78
 - - - formação do nódulo, 81
 - - ciclo do nitrogênio, 76
 - - liberação do rizóbio e desenvolvimento dos nódulos, 84
 - - - bioquímica e fisiologia da fixação do, 89
 - - multiplicação do rizóbio na rizosfera e sua adesão às raízes, 82
 - - penetração do rizóbio na raiz e formação da corrente de infecção, 82
 - metabolismo do, 66, 94-113
 - absorção do nitrogênio inorgânico do solo, 95
 - - aminotransferases, 105
 - - assimilação de NH_4^+ e o ciclo da sintase do glutamato, 100
 - - assimilação do enxofre, 113
 - - biossíntese de aminoácidos, 106
 - - redução do NO_3^- , 96
 - - transporte, 102
 - - utilização do nitrogênio transportado nos sítios de consumo, 104
 - Nitrosomonas, 77
 - N-malonil ACC, 311
 - Nucleotídeos, 206
 - Nutrição, 374 (v.tb. Nutrientes)
 - Nutrição mineral, 40-75, 374, 397
 - absorção iônica pelas células das raízes, 45
 - - caminho dos solutos do meio exterior para o apoplasto das raízes, 45
 - - características gerais da absorção iônica nas plantas inferiores e superiores, 45
 - - de nutrientes minerais pelas folhas, 53
 - - via simplasto: transporte de solutos através das membranas das células, 48
 - - - estrutura e composição das membranas, 48
 - - - mecanismos passivos/ativos de transporte de solutos na membrana plasmática e tonoplasto, 49
 - aquisição e principais funções dos nutrientes, 56
 - - boro, 61
 - - cálcio, 58
 - - cloro, 62
 - - cobre, 63
 - - enxofre, 60
 - - ferro, 63
 - - fósforo, 56
 - - magnésio, 59
 - - manganês, 64
 - - molibdênio, 65
 - - níquel, 66
 - - nitrogênio, 56
 - - potássio, 57
 - - zinco, 67
 - elementos benéficos, 41, 68
 - - alumínio, 70
 - - cobalto, 70
 - - selênio, 70
 - - silício, 69
 - - sódio, 68
 - - - como nutriente mineral, 68
 - - - como substituto do potássio e estimulante do crescimento, 69
 - mecanismos de contato entre as raízes e o solo, 43
 - - difusão, 44
 - - fluxo de massa, 43
 - - interceptação radicular, 44
 - micorrizas arbusculares e a absorção de nutrientes pelas plantas, 71
 - mobilidade de íons e solutos no xilema e floema, 54
 - Nutriente(s) (v.tb. Nutrição mineral)
 - esterificados, 56
 - estruturais, 56
 - inorgânicos, 252
 - iônicos, 56
 - minerais, 42, 272
 - orgânicos, 252
 - transferentes de elétrons, 56
 - Nyctaginaceae, 403
 - Nymphaeaceae, 339
 - Nymphoides peltata*, 319
- ## O
- O-acetilserina, 112
 - Oca, 416

- Ocotea odorifera, 401
 Oligossacarídeos, 183, 389
 Ophioglossum reticulatum, 310
 Orchidaceae, 274
 Organismos
 - causadores de doença, 321
 - não-fotossintetizantes, 114
 Órgão-dreno, 414
 Órgão-fonte, 414
 Ornitina, 106, 110
 Orquidáceas, floração *in vitro* de, 385
 Orquídea(s), 314
 - Aranda, 376
 - Aranthera, 376
 - Catasetum, 314, 375
 - Cycnoches, 314
 - Dendrobium, 376
 - Oncidium, 375
 - Phalaenopsis, 374
 - Psychmorchis pusilla, 375
 Ortogravitrópico, 346
 - negativo, 346
 - positivo, 346
 Oryza sativa, 418
 Osmocondicionamento, 400
 Osmômetro, 10
 Osmose, 9
 Oxalacetato, 202, 206
 Oxalidaceae, 416
 Oxalis tuberosa, 416
 Oxaloacetato, 105
 Oxigênio, 42, 314
 Oxoglutarato, 104
 Ozônio, 315
- P**
- P450 mono-oxigenases, 280
 Pachyrhizus erosus, 413
 Pachyrhizus tuberosus, 411
 Paclobutrazol, 280, 282
 Panax ginseng, 419
 Panicum, 157
 - maximum, 401
 - miliacium, 157
 Paraplat, 315
 Paraquat, 137
 Parasitismo, 89
 Parede celular, 45
 Parênquima, 21
 - cortical, 21
 - lacunoso, 120
 - paliçádico, 120
 - vascular, células do, 180
 Partenocarpia, 241
 Patógenos, infecção por, 316
 Pecíolos, 351
 Pelos radiculares, 45
 Pelthophorum dubium, plantas de, área média de células da base caulinar de, 318
 Pendulina, 419
 Penicillium, 308
 - cyclopium, 309
 - digitatum, 309
 - expansum, 316
 - velutinum, 309
 Pentose-fosfato, via da, 99
 PEP carboxilase, 158, 160
 Pepino, 423
 Periciclo, 21
 Peróxido de hidrogênio, 150
 Peroxissomos, 150
 Pesticidas, 315
 Petunia, 329
 Pfaffia, 419
 - jubata, 419
 - paniculata, 419
 Phalaenopsis, 274
 Phalaris canariensis, 341
 Pharbitis nil, 372, 377
 Phaseolus, 297
 - coccinius, 411
 - lunatus, 257
 - multiflorus, 411
 - vulgaris, 351, 418
 Pigmento(s)
 - fitocromo, 396
 - e/ou criptocromo, sistema de, 353
 - fotorreceptor, 411
 - fotorreversível, 370
 - fotossintéticos, 128
 - o que acontece quando absorvem luz, 126
 Pinaceae, 321
 Pinus, 321
 Piper, 399
 - arietinum, 405
 - auritum, 399
 Pirofosforilase, 164
 - amido sintase, 162
 Pirrolina-5-carboxilato, sintetase de, 110
 Piruvato, 105, 106, 207, 281
 - família do, 111
 Pisum sativum, 279, 333, 367
 Plagiogravitropismo, 342
 Planta(s)
 - adaptadas a sombra, 435
 - alagadas, 315
 - anãs, 279
 - aquática, 401
 - bianuais, 373
 - carnívoras, 354
 - coloração dourada das, 431
 - crescendo em clareiras, 436
 - de arroz cultivadas sob alagamento, crescimento caulinar de, 319
 - de Croton urucurana, 320
 - - curvaturas das folhas de, provocada pelo tratamento com Ethrel, 320
 - - tratadas com Ethrel, 321
 - de dias
 - - curtos, 369
 - - intermediário(s), 369
 - - longos, 369
 - de hábito aquático, 319
 - de Pelthophorum dubium, 318
 - de sol e de sombra, 171
 - de tabaco, 411
 - em solo, 330
 - - alagado, 330
 - - drenado, 330
 - feridas, 338
 - folhosas, 291
 - fotomorfogênese em, 421-438
 - haplóides, 275
 - herbáceas perenes, produção, distribuição e armazenamento de carboidratos em, com órgãos de reserva, 415
 - iluminadas, modulação do crescimento e forma de, 435
 - intensidade limiar, 346
 - intolerantes a sombra, 422
 - invasoras, 434
 - leguminosas, 275
 - lenhosas, 294, 318
 - - arbóreas, 348
 - - duração da fase juvenil em algumas, 379
 - monocárpicas, 321
 - mutantes, 433
 - nativas e cultivadas, estrutura de compostos acumulados nos órgãos de reserva de, 419
 - orquidáceas, floração *in vitro* de, 385
 - selvagens, 431
 - - expostas a luz, 433
 - sob estiação, 415
 - submetidas ao estresse de alagamento, 349
 - subtropicais, 314
 - tropicais, 314
 - tuberosas subutilizadas e com alto potencial alimentício e industrial, 417
 Plantago
 - lanceolata, sementes de, 401
 - tomentosa, 397
 Plasmalema, 189
 Plasmodesmo, 33, 48, 182, 184, 354
 Plasmólise, 15
 Plastídeos, síntese e clivagem dos carotenóides oxigenados nos, 298
 Plastocianina, 130
 Plastoquinol, 132
 Plastoquinona, 130, 132
 Poliaminas, 334, 410
 - biossíntese, 335
 - funções das, 336
 - - celulares, 336
 - - no desenvolvimento vegetal, 336
 - precursores das, 335
 Poligalacturonase, 327, 394
 Polipeptídios, 132
 Polymnia sonchifolia, 412, 416, 417
 Polystichum munitum, 310
 Ponto
 - de compensação
 - - de CO₂, 149, 167
 - - de luz, 170
 - de murchamento permanente, 18
 - de saturação de luz, 171
 Porfirina, anel de, 128
 Poro(s) estomático(s), 32, 120
 - resistência dos, 29
 Potássio, 42, 57
 - canais de, genes codificadores de, 353
 - cianeto de, 315
 - deficiência de, 58
 Potencial(is)
 - bioelétricos, 432
 - de ação, 354
 - gravitacional, 13
 - mátrico ou matricial, 13
 - osmótico do solo, 400
 Pouteria campechiana, 403
 Prata, 315
 Pressão
 - de turgor, 14
 - hidrostática no xilema, 21
 Princípios de Gotthaus-Draper, 125
 Procariotos, 437
 Prolina, 106, 109, 110
 Propileno, 310
 Proplastídeos, 121, 280

- Propriedades físicas e químicas da água, 4
- de coesão e adesão, 6
 - de solvente, 4
 - térmicas, 5
- Proteína(s), 206
- ABP1, 245
 - ácidas, 336
 - AG-MYB, 289
 - ARR do tipo B, 261
 - associadas ao fototropismo, 422
 - CCA1, 363
 - cinase(s), 353
 - - mitogênica ativada, 317
 - citossólica calmodulina, 246
 - CONSTANS, 365
 - CRE1, 262
 - de choque térmico, 389
 - EIN2, 317, 325
 - EIN3, 317, 325
 - ERF1, 317
 - ETR1, 317
 - G, 352, 353, 358
 - heterotriméricas G, 286, 289
 - LEA, 305, 388
 - LHY, 363
 - ligadoras de DNA, 363
 - P citoplasmática, 182
 - PEROD, 359
 - phy, 427
 - receptoras de etileno, 323
 - repressora GAI, 289
 - TIMELESS, 359
 - TOC1, 363
- Protofloema, 182
- Prótons, bombas de, 189
- Protoplasma, 232, 346
- Prunoideae, 321
- Pseudobulbo, 272, 375
- Pseudomonas solanacearum*, 309
- Psychotria*, 390
- Psymorchis pusilla*, 375
- Pteridium aquilinum*, 310
- Pterodon pubescens*, 344
- Pulvino(s), 351
- células motoras dos, 353
 - de feijoeiro, 352
 - foliar, 351
- Putrescina, 110, 334-336
- Q**
- Quimiotropismo, 348
- Quitinase, 394
- Quociente respiratório, 212
- R**
- Radiação, 422
- ambiental, 422
 - solar, 433
- Radicais, 389
- hidroxílicos, 404
 - livres, 389
- Rafinose, 183, 389
- Raios solares, 345
- Raiz(es), 208, 345
- adventícias, 238, 315, 330
 - ápice de, intacta de uma plantinha em posição normal, 347
 - crescimento e diferenciação de, 328
 - - adventícias, 328
 - - aerênquima, 329
 - - crescimento, 328
 - - formação de pêlos absorventes, 328
 - produção mundial e brasileira de, 418
 - submersas, 320
- Ranunculus sceleratus*, 319
- Rapanea ferruginea*, 405
- Reação(ões)
- bioquímicas não-dependentes de luz, 425
 - de epoxidação, 299
 - de hidroxilação, 251
 - de Hill, 64
 - de oxidação e redução, 115
 - gravitropicas, 346
- Receptor de citocinina, expressão do gene que codifica um, em levedura mutante deficiente em receptores do tipo histidina quinase, 262
- Reciprocidade, lei da, 342
- Redução do NO₃⁻, 96
- fotossíntese e a assimilação, 99
 - regulação da enzima, 97
- Região(ões)
- áridas ou semi-áridas, 374
 - de clima temperado, 322, 436
 - subtropicais, 436
 - tropicais, 345, 374, 436
- Regnillidium diphyllum*, 319
- Relações hídricas, 1-39
- absorção e movimento radial de água nas raízes, 18
 - água no solo, 16
 - estrutura e propriedades físico-químicas da água, 2
 - - da molécula de água, 2
 - - de coesão e adesão, 6
 - - de solvente, 4
 - - térmicas, 5
 - fisiologia dos estômatos, 31
 - - caracterização geral dos estômatos, 31
 - - controle do movimento estomático, 36
 - - - água e temperatura, 36
 - - - dióxido de carbono e luz, 37
 - - mecanismos que regulam o movimento estomático, 33
 - movimento de água, 21
 - - ascendente no xilema, 21
 - - - capilaridade, 23
 - - - pressão positiva da raiz, 22
 - - - teoria da coesão e tensão, 24
 - - entre células e tecidos, 13
 - - processo do, 7
 - - - difusão, 8
 - - - fluxo em massa, 7
 - - - osmose, 9
 - potencial de água, 11
 - - componentes do, 12
 - - - de pressão, 12
 - - - gravitacional, 13
 - - - mátrico ou matricial, 13
 - - - osmótico, 12
 - potencial químico, 10
 - transpiração, 27
 - - força que dirige a, 29
 - - por que a, 30
- Relógio
- biológico, sincronização do, 436
 - circadiano, 351, 360 (v.tb. Ritmo circadiano)
 - - características importantes dos fotorreceptores que ajustam o, 360
 - - componentes básicos do, 359
 - - componentes e base molecular do, 357
 - - interação entre, e fotoperiodismo, 364
 - - modelo hipotético de, em plantas, 362
 - - proposta de estrutura básica do mecanismo central do, de *Arabidopsis*, envolvendo três genes componentes do relógio e suas interações, 364
 - - proposta do mecanismo central do, envolvendo três genes componentes e suas interações, 364
- Respiração, 198-216
- controle da, nas plantas por fatores internos, 212
 - - disponibilidade de substrato, 212
 - - fermentos e lesões, 214
 - - quantidade de oxigênio, 213
 - - temperatura, 213
 - de crescimento, 174
 - de manutenção, 174
 - ecofisiologia e a, 215
 - fluxo de carbono na célula, 199
 - - ciclo
 - - - cadeia de transporte de elétrons, 203
 - - - dos ácidos tricarbóxicos ou ciclo de Krebs, 202
 - - fermentação, 205
 - - fluxo respiratório varia com o estado fisiológico da célula, 206
 - - glicólise, 199
 - - via da ubiquinona ou via alternativa de transporte de elétrons, 204
 - na planta inteira, 214
 - nos tecidos e órgãos, 208
 - - caule, 209
 - - flores e frutos, 210
 - - folhas, 209
 - - raízes, 208
 - - sementes, 211
- Retículo
- do vaso crivado, 181
 - endoplasmático, 84, 280, 347
- Rhizobium*, 275
- *leguminosarum*, 316
 - *Rhizophora mangle*, 390
- Rhododendron*, 291
- *pulchrum*, 291
 - *scabrum*, 291
- Ribose, 256
- 5-fosfato, família da, 112
 - 5-monofosfato, 256
 - 5-P, 112
- Ribulose bifosfato, 111
- carboxilase/oxigenase (v. Rubisco)
- Ricinus communis*, 321, 324, 397
- Ritmo(s) circadiano(s), 356-365
- (v.tb. Relógio circadiano)
 - componentes e base molecular do relógio circadiano, 357
 - diagrama de um, típico, 358
 - interação entre relógio circadiano e fotoperiodismo, 364
 - terminologia e características de, 357
- Rizóbio, 79
- Rizoderme, 45
- Rizóforos, 417
- Rizomas, 345
- Rizosfera, 44

RNA, 253
 - polimerase II, 360
 - transportador, 253
Rosarinus, 337
 Rubiaceae, 390
 Rubisco, 143, 195
 - ativase, 147
 - regulação da, 147
Rumex
 - *crispus*, 319, 402
 - espécies de, 330
 - *obtusifolius*, 395
 - *palustris*, 319, 329

S

Sacarose, 6, 141, 161, 183, 206, 415, 419
 - estrutura da molécula de, 163
 - metabolismo da, 414
 - saída de, 193
 - transporte de, 188
Saccharum officinarum, 418
 S-adenosil-metionina, 108, 335
 Salicilato, 315
 Salinidade, 293, 400
Salvinia natans, 310
Samanea, 352
 - *saman*, 351
 Sapindaceae, 403
Sapindus saponaria, 403
 Saponinas, 416
 - triterpênicas, 419
 Sapotaceae, 403
Sauromatum guttatum, 340
Schizolobium parahyba, 405
 Seca, 310, 315
Secale cereale, 373
Selaginella wildenovii, 310
 Selênio, 70
 Semente(s), 211, 290, 386
 - com envoltórios impermeáveis, 391
 - de alface, 370, 425
 - de amendoim, 313
 - de *Bracharia brizantha*, 401
 - de *Catharanthus roseus*, efeitos de diferentes temperaturas na germinabilidade e velocidade de germinação de, 399
 - de cevada, representação esquemática da, em germinação e estrutura funcional de seus principais tecidos, 287
 - de *Cucumis anguria*, 388, 396
 - germinação sob luz branca e no escuro de, provenientes de frutos amadurecidos em condições de dias curtos, 396
 - de *Eichhornia crassipes*, 401
 - de embaúba, 434
 - de frutos carnosos, 323
 - de *Ilex paraguariensis*, 399
 - de *Koeleria paniculata*, 291
 - de maxixe, 397
 - de *Plantago lanceolata*, 401
 - de tomate embebidas, ação de giberelinas e ácido abscísico na expressão de genes, 394
 - desenvolvimento da, 386
 - desidratação e tolerância a dessecação, 388
 - etapas do, 386
 - dormência de, 387
 - classificação dos principais tipos de, 407
 - primária, 387

- principais eventos associados a quebra da, 290, 406
 - transição entre diferentes estados de, e quiescência em, 405
 - evolução de alguns eventos citológicos e bioquímicos observados durante as fases de histodiferenciação, maturação e dessecação das, 387
 - fotoblásticas, 424
 - controle da germinação de, 434
 - positivas, 424
 - germinação de, modos de ação do fitocromo durante a inibição do alongamento do hipocótilo e regulação da, 430
 - iluminadas com luz solar direta, 434
 - imaturas, 395
 - longevidade de uma, 402
 - mudanças de fase das membranas durante a dessecação e a embebição da, 392
 - não-dormentes, 395
 - ortodoxas, 389, 403
 - padrão de variação do conteúdo de água e principais eventos fisiológicos e metabólicos associados às diferentes fases da captação de água pela, durante a germinação, 391
 - quiescente, 387
 - recalcitrantes, 389, 404
 - submetidas a secagem, 396
 Senescência, 321
 - foliar, retardamento da, 264
Senna
 - *macranthera*, 351
 - *multijuga*, 403, 405
 Sensibilidade ao etileno, 328
 Serapilheira, 398
 Serina, 105, 106, 111, 112
 - aminotransferase de, 106
 - transidroximetilase, 150
 Seringueira, 321
 Silício, 42, 69
 Silte, 17
Simarouba amara, 403
 Simaroubaceae, 403
 Simbiossomo, 85
 Simplasto, 20, 183
 Sinal floral, 372
Sinapis
 - *alba*, 368, 375
 - *arvensis*, 401
Sinningia allagophylla, 409
 Síntese
 - de aminoácidos, 101
 - de ATP, 123
 - de carboidratos, 117
 Sinterase
 - da asparagina, 102
 - de pirrolina-5-carboxilato, 110
 Sismonastismo, 353
 Sistemina, 338
Sisymbrium officinale, 401
 Sítios de consumo da planta, 95
 Sódio, 68
 - benzoato de, 312
 - como nutriente mineral, 68
 - como substituto do potássio e estimulante do crescimento, 69
 Soja, 344
Solanum
 - *gracillanum*, 399

- *tuberosum*, 409, 418
 - indução de tuberação em, 410
 Solo, 315
 - alagado, 330 (v.tb. Alagamento)
 - drenado, 315, 330
 - microorganismos do, 402
 - potencial osmótico do, 400
 Solutos de endosperma, 287
Sorghum
 - *bicolor*, 401
 - *halepense*, 401
Spatodea campanulata, 330
Spergularia marina, 400
Sphagnum cuspidatum, 310
Spinacia, 321
 - *oleracea*, 285, 288, 400
Spirodella polyrrhiza, 339
 Sprengel-Liebig, lei do mínimo de, 41
 Sterculiaceae, 403
Stevia rebaudiana, 379
Striga asiatica, 401
 Substratos radioativos, 253
 Subunidade protéica, 426
 - dos fitocromos, 427
 Succinato, 202
Sucrose transporter 1, 190
 Sulfato, 113
 Sulfolipídios, 48

T

Tabaco, 265, 276, 411
 Tanchagem, 397
 Tangerineiras, 292
 Teasterona(s), 334
 Técnica(s)
 - de DNA recombinante, 411
 - molecular de análise de microarranjos, 437
 Temperatura(s), 314, 373
 - cardeais, 399
 - fenômeno da compensação de, 357
 - foliar, resposta fotossintética à, 172
 Tempo
 - circadiano, 357
 - de apresentação, 346
 - de reação, 346
 Teoria
 - da coesão e tensão, 22
 - quimiosmótica para o transporte polar da auxina, 227
 Termonastismo, 349, 350
 Testes de germinação, 404
 Tetraciclase, 280, 282
 Tetraidrofolato, 150
Theobroma, 274
 - *cacao*, 274
 - *grandiflorum*, 403
 Thidiazuron, 252, 315
 Tifasterol, 334
 Tigonastismo, 349, 353
 Tigmotropismo, 348
 Tilacóides, 123
 - complexos supramoleculares nas membranas dos, 137
Tillandsia recurvata, 236, 253
 Timina-adenina, 287
 Tiorredoxina, 149
 Tiririca, 401
 Tirosina, 106, 108, 109

- Tolerância a dessecação, desidratação e, 388
 Tomateiro, 430, 431
 Transaminase de glutamato, 105
 Transdução de sinais, 301
 Transpiração, 9, 27
 - cuticular, 29
 - estomática, 28
 - força que dirige a, 29
 - por que a, 30
 Transporte
 - cíclico de elétrons, 136
 - de elétrons e herbicidas, 137
 - de sacarose, 188
 - do nitrogênio, 102
 - fonte-dreno, 193
 - intermediário, 185
 - no floema, 179-197
 - - carregamento e descarregamento, 185
 - - constituição dos elementos crivados e células companheiras, 181
 - - - células companheiras, 182
 - - - elementos crivados, 181
 - - de sacarose, 188
 - - - bombas de prótons, 189
 - - o que é transportado, 192
 - - açúcares, 192
 - - - outros elementos transportados, 192
 - - saída de sacarose, 193
 - - vias apoplástica e simplástica, 183
 - - - apoplasto, 183
 - - - intermediário, 185
 - - - simplasto e plasmodesmo, 184
 - - - visão geral
 - - - do carregamento e descarregamento do floema, 190
 - - - do sistema de, 179
 - polar das auxinas, 224
 - - teoria quimiosmótica, 226
 Trans-violaxantina, 299
 Traqueídeos, 21
 Tremoço, 294
 Treonina, 106, 107, 108, 111
Trichomanes speciosum, 310
 Tricomas, 53
 Trigo, cultura de, 434
 Trioses-P, 160
 Triptamina, 221
 Triptofano, 106, 108, 221
Triticum sp., 418
- Tropaeolaceae, 416
Tropaeolum tuberosum, 416
 Tropismos, 341
 - fototropismo, 341, 345-348
 Tubérculos, produção mundial e brasileira de raízes e, 418
 Tuberização, 409-420
 - controle da iniciação da, 410
 - - fatores, 410
 - - - ambientais, 410
 - - - endógenos, 412
 - importância econômica dos órgãos tuberosos, 416
 - indução de, 410
 - - em *Solanum tuberosum*, 410
 - - fatores ambientais e supostas moléculas que afetam a, de batata, 410
 - metabolismo dos carboidratos de reserva, 413
 - perspectivas, 419
Tulipa sp., 409
 Turgorinas, 354
- U
- Ubiquinona, via da, ou via alternativa de transporte de elétrons, 204
Ullucus tuberosum, 416
 Ultravioleta (v. UVA)
 Uluco, 416
 Umbelliferae, 416
 Umbrófitas, 435
 Uniconazole, 280, 282
 Urease, 66
 Ureídos, 103
 UVA, 422
 UVB, 422
- V
- Vacúolo, 182
 Valina, 106, 111
 Van der Waals, força de, 4
 Van't Hoff, equação de, 13
 Vassoura-de-bruxa, 274
 Vernalina, 373
Vernonia herbacea, 413, 417
 Verticilos, 380
- Vicia fava*, 183, 316
Victoria amazonica, 350
 Videiras, 348
Vigna radiata, 329
Viguiera discolor, 417
 Vinca, 399
Virola surinamensis, 403, 405
 Vírus do mosaico da couve-flor, 254
 Vitamina K₁, 134
 Vitória-régia, 350
- W
- Warburg, efeito, 149
 Went, experimentos de, 343
Whiptail, 66
Wolffia microscopica, 330
- X
- Xanthium pensylvanicum*, 297, 318
Xanthosoma sagittifolium, 417, 418
 Xantofilas, 129, 298
 Xantoxina, 298, 299
 Xilema, 18, 21, 102, 179, 183, 255, 315, 352
 - células condutoras no, 21
 - mobilidade de íons e solutos no, 54
 - movimento ascendente de água no, 21
 - pressão hidrostática no, 22
 Xiloglucano, moléculas de, 394
 Xilopódio, 417
 Xilose, 256
- Y
- Yacón, 416
 Yang, ciclo de, 311
- Z
- Zantedeschia aethiopica*, 291
Zea mays, 279, 418, 423
 Zeatina, 251, 274
 Zeaxantina, 129, 298, 299
 Zinco, 42, 67, 315
Zingiber officinalis, 418
Zinnia elegans, 235, 334