



# FISILOGIA

AULAS TEÓRICAS DE FISILOGIA VEGETAL  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

**Prof. Paulo Henrique Pereira Peixoto**

# VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA



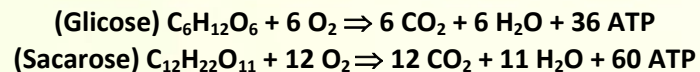
## 1. RESPIRAÇÃO:

Durante a respiração, compostos orgânicos reduzidos (substratos) são mobilizados e, posteriormente, oxidados de maneira controlada, sendo a energia livre produzida/liberada utilizada para a síntese de ATP (principal coenzima celular armazenadora de energia). As moléculas de ATP produzidas na respiração são utilizadas para a manutenção e/ou crescimento das plantas.

Os principais substratos respiratórios utilizados pelas plantas são os carboidratos (açúcares solúveis ou não-solúveis), os lipídios (gordura e óleos) e as proteínas. Todavia, os substratos imediatos da respiração são os açúcares solúveis (glicose, frutose, sacarose, gliceraldeído-3-fosfato, dihidroxiacetona-fosfato, etc). Os demais substratos (amido, lipídios e proteínas) devem ser inicialmente quebrados e/ou transformados em açúcares solúveis, que então, atuam como substratos respiratórios. Em plantas essas substâncias são produzidas direta ou indiretamente pela fotossíntese, processo fisiológico que fornece diferentes “combustíveis” para a respiração (inicialmente trioses, como o gliceraldeído-3-fosfato (3PGAlD) e a dihidroxi-acetona-fosfato (DHAP)), não havendo a necessidade da produção da glicose ou de sacarose para que o processo respiratório tenha início. A respiração é um processo que consome cerca de 50% dos produtos (açúcares) diários da fotossíntese.

A respiração aeróbia apresenta o oxigênio (O<sub>2</sub>) como agente de oxidação dos substratos. Os principais subprodutos desse processo são o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e a água (H<sub>2</sub>O). A glicose (monossacarídeo) utilizada na respiração é obtida a partir da hidrólise de moléculas de sacarose (dissacarídeo) ou de polissacarídeos de reserva (amido). Em plantas, todavia, a sacarose o principal substrato da respiração.

As equações, a seguir, apresentam um resumo dos processos de respiração aeróbia tendo como substratos a glicose ou a sacarose:



Na oxidação da glicose ou da sacarose ocorre a quebra dessas moléculas. Os átomos de hidrogênio são removidos e, posteriormente, combinados com o oxigênio que, por sua vez, é reduzido a água. No processo, os elétrons vão de níveis mais altos de energia para níveis mais baixos, liberando, assim, energia para a produção de ATP.

Além da respiração aeróbia, cujo rendimento energético é maior, a respiração celular também pode ocorrer em ausência de oxigênio, embora esse processo apresente um rendimento energético (produção de ATP) bastante reduzido. Os motivos dessa diferença e as particularidades do processo serão discutidos ao longo desse capítulo.

### **Respiração Aeróbia:**

A respiração aeróbia é um dos ciclos mais importantes do metabolismo primário. Ela envolve três etapas: A glicólise, o Ciclo de Krebs e a Cadeia de Transporte de Elétrons (CTE).

#### **Glicólise:**

A glicólise é a primeira etapa do processo respiratório. A glicólise é um processo oxidativo, tipicamente citoplasmático (e cloroplastídico), que não utiliza o oxigênio diretamente. A glicólise responde por cerca de 80% da respiração citossólica, sendo os 20% restantes complementados pela Rota das Pentoses Mono-Fosfato (RPMF).

Os substratos glicolíticos (açúcares solúveis) são direcionados para a produção de trioses fosfatadas, açúcares bastante simples contendo três carbonos. Para cada molécula de sacarose metabolizada, quatro moléculas de trioses (gliceraldeído-3-fosfato = 3PGAlD) são produzidas. Todavia, esse processo requer a adição de até 4 moléculas de ATP. Quando o substrato é glicose, os rendimentos, em termos de trioses e de consumo de ATP, caem pela metade. Nessa primeira fase do processo, portanto, não há produção de ATP, mas há consumo. Essa etapa termina com a produção de 2 moléculas de **3PGAlD** por molécula de glicose oxidada.

A partir desse ponto, tem início a fase de conservação de energia da glicólise, onde as duas moléculas de **3PGAlD** produzidas são convertidas, em uma seqüência de reações, em duas moléculas de **piruvato** (C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>), principal substrato do Ciclo de Krebs, que se processa na matriz mitocondrial. Para cada molécula de 3PGAlD oxidada, 2 moléculas de ATP são produzidas, o que resulta em um rendimento final de 4 moléculas de ATP por molécula de glicose oxidada. Ao mesmo tempo, são formadas 2 moléculas de **NADH**, um cofator reduzido e envolvido na bioenergética da respiração como agente redutor na CTE. O rendimento líquido, em termos de ATP, é de 2 moléculas formadas por molécula de glicose oxidada. A produção de ATP na glicólise é denominada *fosforilação ao nível*

de substrato, uma vez que o processo ocorre por meio da transferência enzimática de um grupo fosfato, retirado de um intermediário metabólico, para o ADP, o que difere da fosforilação oxidativa, que envolve o funcionamento de cadeias de transporte de elétrons.

Além do piruvato, outro importante intermediário formado durante a fase glicolítica é o fosfoenol-piruvato (PEP), cuja produção também é de duas unidades por molécula de glicose oxidada. O PEP pode ser convertido em oxalacetato que, posteriormente, é convertido em malato. O malato pode ser transportado para a matriz mitocondrial, onde funciona como um substrato alternativo, adicional e/ou complementar ao piruvato no Ciclo de Krebs. Além dessa função, o PEP, juntamente com a eritrose-4-fosfato (Eritrose-4P), uma molécula produzida na Rota das Pentoses Mono-Fosfato, são substratos iniciais da síntese de moléculas precursoras do metabolismo secundário, responsáveis, por exemplo, pela síntese de compostos como a lignina e os alcalóides.

Ao final da glicólise, os produtos formados podem apresentar diferentes destinos, o que depende das necessidades metabólicas e, principalmente, da disponibilidade ou não de oxigênio ( $O_2$ ) no meio. Na atmosfera terrestre, a concentração de  $O_2$  encontra-se próxima a 21%. Todavia, nos ambientes aquáticos e no solo, essa concentração é menor. Quando a concentração de oxigênio se reduz entre 5-2% (hipoxia) ou cai a 0% (anoxia), o processo respiratório normal, envolvendo o Ciclo de Krebs e a CTE é interrompido, passando a respiração a ser restrita à glicólise, resultando no metabolismo fermentativo.

A fermentação (respiração anaeróbia) é um mecanismo ineficiente para as plantas, uma vez que o número de moléculas de ATP produzidas por molécula de glicose oxidada cai de 36 para apenas 2. Além disso, o processo fermentativo gera substâncias tóxicas para o metabolismo celular, o que acaba causando senescência e morte dos tecidos afetados em indivíduos não adaptados aos ambientes com baixas tensões ou ausência de oxigênio. No processo fermentativo, as duas moléculas de piruvato formadas são transformadas em lactato (fermentação láctica) ou em acetaldeído, sendo esse convertido em etanol (fermentação alcoólica), em reação que resulta na liberação de  $CO_2$ . Em plantas, a fermentação alcoólica é mais comum que a láctica, mas tanto o lactato quanto o etanol são tóxicos para as células, devendo ser rapidamente “varridos” do metabolismo para não causarem danos.

Como se explica, então, a utilização pelas plantas da glicólise fermentativa, processo metabólico que pode resultar em danos celulares? Além disso, na natureza, em quais situações as plantas podem ser submetidas às condições de

hipoxia/anoxia? Para responder a primeira questão, é necessário que se observe a fase de conservação de energia da glicólise. Nessa etapa, é possível verificar que a produção de moléculas de ATP ocorre paralelamente à produção de moléculas de piruvato e de NADH. Todavia, sem  $O_2$  no meio, o piruvato não é transferido para a mitocôndria, organela onde as 34 moléculas restantes de ATP são produzidas, associadas ao funcionamento do Ciclo de Krebs (2 moléculas) e, principalmente, da CTE (32 moléculas). A glicólise fermentativa é a única alternativa existente para a manutenção da produção de ATP, que ocorrerá, entretanto, com um rendimento extremamente baixo e com a produção de moléculas tóxicas (lactato, acetaldeído e etanol). Essa alternativa, contudo, torna-se necessária para que moléculas de  $NAD^+$  (NAD na forma oxidada) sejam produzidas, uma vez que a reação catalisada pela enzima gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase utiliza essa coenzima. Durante a fermentação alcoólica e láctica, moléculas de NADH são oxidadas (perdem  $e^-$ ) originando moléculas de  $NAD^+$ , possibilitando a manutenção da respiração glicolítica (fermentativa). Portanto, a resposta para a primeira pergunta é a necessidade de produção de moléculas de  $NAD^+$ , sendo a fermentação a alternativa bioquímica existente para que essa reação ocorra em condições de anoxia/hipoxia. Deve-se ressaltar, entretanto, que sob condições normais de oxigênio, as moléculas de  $NAD^+$  necessárias à reação enzimática da gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase são formadas pela oxidação das moléculas de NADH (produzidas na glicólise) na face externa da membrana interna das mitocôndrias, durante o funcionamento da CTE, eliminando a necessidade da fermentação e os seus inconvenientes metabólicos. Portanto, a fermentação para as plantas é um processo paliativo, de baixo rendimento energético (2 ATPs/molécula de glicose) e que somente funciona em tempo reduzido de exposição devido à toxidez de seus subprodutos.

Sob quais situações ou condições ambientais as plantas são expostas à anoxia/hipoxia? Essas situações, sem dúvida, se restringem a algumas condições ou a ambientes específicos, como, por exemplo, em câmaras frigoríficas, onde a redução da concentração  $O_2$  é utilizada visando à conservação de frutos, verduras e hortaliças e, principalmente, em ambientes de “terra-firme” eventualmente alagados por inundações, causadas por chuvas em excesso e pela formação de lagos ou reservatórios em usinas hidroelétricas. No primeiro caso, os danos metabólicos dependem da duração da condição de alagamento em decorrência das chuvas. Quando a exposição à anoxia/hipoxia é reduzida, a planta pode se recuperar, o que não acontece quando a exposição a essas condições é prolongada, uma vez que as raízes são danificadas pelo etanol. Nos reservatórios e nos lagos das usinas



hidroelétricas, a consequência final é a eliminação das espécies não adaptadas, que caracteristicamente não conseguem desenvolver estruturas morfológicas para evitar a anoxia/hipoxia, além de não apresentarem enzimas e/ou metabolismo adaptado para eliminação do etanol acumulado.

Todavia, algumas espécies vegetais são adaptadas a essas condições, apresentando estruturas que mantêm a oxigenação nos tecidos mesmo sob condições de alagamento, com destaque para a formação de aerênquimas, lenticelas e/ou pneumatóforos. Além disso, algumas espécies apresentam enzimas que “varrem” o etanol produzido, evitando os danos celulares causados pela redução no conteúdo de oxigênio. Tipicamente, essas plantas são nativas de várzeas e/ou de matas ciliares, ambientes sujeitos às inundações periódicas ou, ainda, são espécies aquáticas flutuantes, como o aguapé e a salvinia ou, então, espécies subaquáticas, incluindo desde algas até angiospermas.

#### **Rota das Pentoses MonoFosfato:**

A rota glicolítica não é a única disponível para a oxidação citossólica de açúcares em tecidos vegetais. Partilhando metabólitos comuns, a Rota das Pentoses MonoFosfato (RPF) também pode realizar essa tarefa numa proporção de aproximadamente 20% do processo. As reações da RPF são catalisadas por enzimas solúveis presentes no citossol e nos plastídios, predominando nesses últimos. Essa rota também tem como substrato um açúcar de 6 carbonos, a *glicose-6-fosfato* (glicose-6P). A RPF tem como produto final a *NADPH*, outra coenzima reduzida e envolvida na bioenergética da respiração (atua em reações citossólicas, nos plastídios e na CTE). A equação abaixo resume o processo de oxidação da glicose-6P na RPF.



Portanto, após 6 voltas no ciclo, o resultado líquido da RPF é a completa oxidação das moléculas de glicose-6P a  $\text{CO}_2$  (o  $\text{CO}_2$  não é produzido na via glicolítica), com a síntese concomitante de 12 moléculas de *NADPH*. Além disso, a RPF produz diversos intermediários metabólicos. A *ribose-5-fosfato* é um precursor da síntese de riboses e desoxi-riboses, requeridas para a síntese de RNA e DNA, respectivamente. A *eritrose-4-fosfato*, como salientado anteriormente, combina com o PEP, produzido na glicólise. Ambos estão envolvidos nas reações

iniciais que produzem compostos fenólicos nos vegetais, incluindo aminoácidos aromáticos e precursores da lignina, flavonóides e fitoalexinas, por exemplo.

#### **Ciclo de Krebs:**

Na glicólise pela via aeróbia, a oxidação da glicose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) é incompleta, resultando na produção de moléculas de *NADH*, *ATP* e piruvato ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ ). O piruvato é uma molécula reduzida, apresentando grande quantidade de energia livre em suas ligações químicas. A oxidação completa da glicose envolve a transferência do piruvato para as mitocôndrias, organela onde acontecem o Ciclo de Krebs e a CTE.

As mitocôndrias são organelas semi-autônomas com DNA, síntese de proteínas e ribossomas (70S) próprios. Além disso, as mitocôndrias apresentam duas unidades de membranas, que separam o espaço intermembranas e o citossol da matriz fluida. Os ribossomas 70S e a dupla membrana são características que associam a origem das mitocôndrias à teoria da endossimbiose entre bactérias (procariotos tipicamente apresentam ribossomas 70S, enquanto os eucariotos têm 80S) e células de eucariotos. A fagocitose das bactérias por células de eucariotos explicaria a ocorrência da dupla membrana. Essas membranas apresentam permeabilidade diferencial, sendo a externa pouco seletiva, enquanto a interna é bastante seletiva. Entre ambas forma-se um ambiente denominado *espaço intermembranas*, extremamente importante para a síntese de *ATP* na *fosforilação oxidativa* em processo associado ao funcionamento da CTE.

Na respiração aeróbia, o piruvato é transportado para o interior das mitocôndrias por um mecanismo de troca do tipo antiporte envolvendo  $\text{OH}^-$ , o que acontece com a participação de uma proteína transportadora localizada na membrana interna das mitocôndrias. Quando o malato proveniente da glicólise serve de substrato, ele é trocado por *Pi*, também num sistema de transporte do tipo antiporte. No interior da mitocôndria, o malato é transformado em piruvato. O piruvato presente na mitocôndria é oxidado em uma série de reações conhecidas como *Ciclo de Krebs*, em homenagem ao cientista Alemão Hans A. Krebs, que em 1937 relatou a descoberta do *Ciclo do Ácido Cítrico*, fazendo jus, por esse trabalho, a um Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina no ano de 1953. Esse Ciclo é também conhecido como Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos em função de dois importantes componentes do ciclo de Krebs apresentar três carboxilas.

A reação de transformação do piruvato em *acetil-CoA* ainda não faz parte do Ciclo. A primeira reação propriamente dita do Ciclo de Krebs envolve a transformação do acetil-CoA e do oxalacetato (AOA) em *citrate*, que, então, é

oxidado a *isocitrato*, *2-oxoglutarato*, *succinil-CoA*, *succinato*, *fumarato*, *malato* e finalmente a *oxalacetato*, fechando o Ciclo. A cada molécula de piruvato que entra no ciclo de Krebs são produzidas três moléculas de  $\text{CO}_2$  (local de produção desse gás na respiração aeróbia). Os elétrons liberados nas reações oxidativas são utilizados para reduzir quatro moléculas de  $\text{NAD}^+$  a  $\text{NADH}$  e uma molécula de  $\text{FAD}$  a  $\text{FADH}_2$ . Em todas as reações onde ocorre a síntese da  $\text{NADH}$  e na reação de síntese da  $\text{FADH}_2$ , as enzimas envolvidas são *desidrogenases* (*malato desidrogenase*, *succinato desidrogenase*, etc). A  $\text{NADH}$  é a principal coenzima redutora relacionada à Cadeia de Transporte de Elétrons. Além dessas substâncias reduzidas, uma molécula de ATP é sintetizada ao nível de substrato na reação catalisada pela enzima *succinil Co-A sintetase*. Como ao final da glicólise são produzidas duas moléculas de piruvato, para a completa oxidação da glicose, é necessário que o Ciclo de Krebs gire duas vezes. Portanto, todos os compostos desse Ciclo são produzidos em dobro (8 moléculas de  $\text{CO}_2$ , 8 moléculas de  $\text{NADH}$  e 2 moléculas de ATP). Como é possível observar, até esse estágio da respiração aeróbia, foram produzidas, em termos líquidos, apenas 4 moléculas de ATP do total esperado de 36 moléculas resultantes da completa oxidação da glicose. Tal fato evidencia que o principal sistema de produção do ATP na respiração aeróbia envolve o funcionamento da CTE.

### **Cadeia de Transporte de Elétrons:**

Os estudos relacionados ao funcionamento da Cadeia de Transporte de Elétrons (CTE) são muito interessantes, pois envolvem conhecimentos relacionados às biológicas celular e molecular e a utilização de inibidores de fluxo de elétrons. A CTE apresenta diferentes complexos protéicos localizados nas membranas internas das mitocôndrias. Três desses complexos são formados por proteínas transmembrana, enquanto um deles é formado por uma proteína periférica. Um quinto complexo protéico, também localizado na membrana interna, é o responsável pela síntese de ATP.

O principal substrato da CTE é a  $\text{NADH}$ . Essa coenzima reduzida é oxidada no *Complexo I* (denominado *NADH desidrogenase*), um complexo enzimático capaz de oxidar a  $\text{NADH}$  e transferir seus elétrons ao "*Pool de Ubiquinona-UBQ*", um pequeno carregador de prótons e elétrons solúvel em lipídios e localizado no interior da membrana interna. Quatro prótons ( $\text{H}^+$ ) são bombeados para o espaço intermembranas em resposta a cada par de elétrons que se movimenta através do complexo I (cada molécula de  $\text{NADH}$  oxidada libera um par de elétrons). O *Complexo II* (*succinato desidrogenase*) promove a oxidação do *succinato* a

*fumarato*, com a produção de  $\text{FADH}_2$ , que por sua vez também fornece elétrons ao *pool de UBQ*. O *Complexo II* não bombeia prótons para o espaço intermembranas. O *Complexo III* (citocromo  $\text{bc}_1$ ) oxida a ubiquinona reduzida (ubiquinol) e transfere elétrons ao *citocromo c*, uma proteína periférica fracamente presa à membrana interna e que transfere elétrons do *Complexo III* ao *Complexo IV*. Quatro prótons ( $\text{H}^+$ ) são bombeados para o espaço intermembranas para cada par de elétrons que passa pelo complexo. O *Complexo IV*, denominado *citocromo c oxidase* ou oxidase "normal", contém, dentre outros, os citocromo *c* e  $\text{a}_3$ . O *Complexo IV* é a oxidase terminal e realiza a redução do  $\text{O}_2$  a moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$ . Dois prótons ( $\text{H}^+$ ) são bombeados para o espaço intermembranas para cada par de elétrons que passa por esse complexo.

A transferência de elétrons do citocromo *c* para o  $\text{a}_3$  (oxidase normal) é o local onde a CTE dos animais é interrompida em resposta à adição de cianeto (CN), azida ( $\text{HN}_3$ ) ou monóxido de carbono (CO), interrompendo totalmente o fluxo de elétrons e, conseqüentemente, toda a respiração, o que leva o indivíduo à morte devido à acidose celular. Todavia, ao contrário do que ocorre em mitocôndrias animais, o funcionamento da CTE nas mitocôndrias dos vegetais não é interrompido pela adição de cianeto. Estudos subsequentes demonstraram que as mitocôndrias vegetais apresentam uma via auxiliar de fluxo de elétrons, denominada *oxidase alternativa* (AOX), que consegue receber elétrons diretamente do *pool de UBQ*, sem passar pelos complexos III e IV, reduzindo o  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Essa via, entretanto, não tem por finalidade específica tornar as mitocôndrias vegetais resistentes ao cianeto, mas, sim funções ecológicas e metabólicas, como veremos mais a frente. Além dos quatro complexos protéicos e da AOX, as mitocôndrias vegetais também apresentam pelo menos mais quatro proteínas adicionais que atuam transferindo elétrons ao *pool de UBQ*, aumentando o rendimento do processo respiratório.

O funcionamento da CTE resulta na transferência líquida de  $\text{H}^+$  da matriz mitocondrial para o espaço intermembranas, o que possibilita a formação de um gradiente de potencial eletroquímico entre esses dois compartimentos. Esse gradiente é utilizado como força motriz para a produção de energia durante a respiração aeróbia (produz as 32 moléculas restantes de ATP). Peter Mitchell propôs, em 1961, a *Teoria Quimiosmótica*, explicando como os gradientes de potencial eletroquímico são utilizados para a síntese de ATP. Essa teoria foi posteriormente comprovada, dando a Mitchell um Prêmio Nobel. Segundo a *Teoria Quimiosmótica*, "*gradientes de potencial eletroquímico, gerados entre compartimentos separados por membranas semipermeáveis, fornecem a força*



*matriz necessária à síntese de ATP*". Essa teoria pode ser analogamente explicada pelo funcionamento de usinas hidroelétricas. Nas usinas, a massa de água armazenada nos lagos é forçada, através de uma tubulação, até as turbinas que, por sua vez, giram produzindo energia cinética, posteriormente transformada em energia luminosa.

Os três complexos protéicos envolvidos no transporte de  $H^+$  para o espaço intermembranas são denominados *complexos conservadores de energia*. Nas mitocôndrias das plantas e dos animais, o complexo protéico  $F_0F_1ATP$ -sintase (também denominado *Complexo V*), localizado na membrana interna da mitocôndria, permite que os  $H^+$  bombeados para o espaço intermembranas retornem para a matriz mitocondrial através de um canal existente no seu interior. Quando isso acontece, o gradiente de potencial eletroquímico é dissipado e a energia livre liberada possibilita que moléculas de fosfato inorgânico (**Pi**) sejam incorporadas ao ADP, originando moléculas de ATP. Estudos de bioenergética demonstraram que para cada  $3H^+$  que retornam do espaço intermembranas para a matriz mitocondrial (força próton-motora), uma molécula de ATP é produzida. A síntese de 1 molécula de ATP exige  $\Delta G = -11$  a  $-13$  Kcal/mol. Como o  $\Delta G_{H^+} = -5,06$  Kcal/mol, são necessários pelo menos  $3H^+$  ( $\Delta G_{3H^+} = -15$  Kcal/mol). Esse processo, por envolver o funcionamento da CTE recebe a denominação de *fosforilação oxidativa*. A produção de ATP e o fluxo de elétrons na CTE são processos *acoplados* (inter-relacionados), uma vez que se o fluxo de elétrons for interrompido, a produção de ATP também é paralisada. Esse fato pode ser comprovado com a utilização de substâncias *desacopladoras* como o *dinitrofenol* (DNP), por exemplo. Essas substâncias são *ionóforos*, moléculas solúveis nas membranas e capazes de se dissociarem em ambientes alcalinos, impedindo a formação do gradiente de potencial eletroquímico e, conseqüentemente, a síntese de ATP. Esse processo impede a produção de ATP, mas não interrompe o fluxo de elétrons (por isso é denominado *desacoplante*).

A quebra aeróbia da molécula de glicose a  $CO_2$  e  $H_2O$  resulta na produção de 36 moléculas de ATP. Em comparação ao que é produzido na fermentação, cujo saldo é de apenas 2 moléculas de ATP por molécula de glicose oxidada, percebe-se um rendimento 18 vezes maior para a respiração aeróbia. Isso foi observado por *Louis Pasteur* em seus estudos de microbiologia utilizando microorganismos anaeróbios facultativos. Ele verificou que quando esses microorganismos eram mantidos em ausência de oxigênio, o consumo de glicose era maior do que sob condições aeróbias, fato que ficou conhecido como "*Efeito Pasteur*". A análise do

balanço do rendimento da respiração aeróbia, apresentado a seguir, somente foi possível pelo conhecimento atual da organização dos complexos protéicos na membrana interna das mitocôndrias, assim como pela utilização de moléculas inibidoras do fluxo de elétrons na CTE.

Rendimento da respiração aeróbia (por molécula de glicose):			
Quantidade produzida	Local	Rendimento	Total Parcial
⇒ 2 ATP ao nível de substrato	Glicólise	-	2 ATP
⇒ 2 ATP ao nível de substrato	Ciclo de Krebs	-	2 ATP
⇒ 2 moléculas de NADH	Glicólise	2 x <u>2</u> ATP	4 ATP
⇒ 8 moléculas de NADH	Ciclo de Krebs	8 x <u>3</u> ATP	24 ATP
⇒ 2 moléculas de $FADH_2$	Ciclo de Krebs	2 x <u>2</u> ATP	4 ATP
<b>Saldo Total</b>			<b>36 ATP</b>

A explicação para o menor rendimento na produção de ATP, quando a NADH é proveniente da glicólise ou quando esta é procedente do Ciclo de Krebs, está relacionada ao número de *complexos protéicos conservadores de energia* envolvidos no processo. Ou seja, quantos complexos protéicos efetivamente participam do mecanismo de transferência de  $H^+$  para o espaço intermembranas. Quando a NADH é proveniente do citossol, apenas os complexos III e IV funcionam, lançando um total de  $6H^+$  para o espaço intermembranas, o que sob o ponto de vista bioenergético permite a formação de apenas **2** moléculas de ATP (lembrando que a cada  $3H^+$  que voltam pela ATPsintase, uma molécula de ATP é produzida). Quando a NADH é proveniente do Ciclo de Krebs, todos os complexos protéicos entram em funcionamento, bombeando um total de  $10H^+$  para o espaço intermembranas, o que possibilita um rendimento de até **3** moléculas de ATP.

Essas observações permitem retornar às informações relacionadas às funções da oxidase alternativa (AOX). Essa via tem funções ecológica e metabólica, atuando basicamente no aumento da temperatura em determinados órgãos ou de toda a planta e no controle da concentração intracelular de ATP. Naturalmente, o funcionamento da AOX não é estimulado por cianeto, que uma vez interrompendo o fluxo de elétrons na oxidase normal dificilmente é eliminado, mas, por um análogo do princípio ativo da aspirina (ácido acetil-salicílico), o *ácido salicílico*. O ácido salicílico, recentemente, tem sido associado a diferentes processos fisiológicos em plantas como uma molécula sinalizadora (característica de

fitormônio). Em determinadas plantas de clima frio, o desvio do fluxo de elétrons, ativado pelo ácido salicílico nas épocas de inverno, causa o aquecimento da planta como um todo, permitindo a sua sobrevivência nesse ambiente. Esse efeito termogênico é observado de modo espetacular em plantas da família das Araceae, principalmente em *Symplocarpus foetidus*. Essa espécie apresenta uma espádice, que na época da polinização tem a sua temperatura aumentada em até 14°C acima da temperatura ambiente, liberando odores, geralmente ruins, que atraem moscas e outros insetos responsáveis pela polinização. Esse aumento de temperatura é antecipado pelo aumento na concentração de ácido salicílico em seus tecidos.

A explicação para o aquecimento está associada ao funcionamento da CTE. Ao desviar o fluxo de elétrons para a AOX, o número de complexos conservadores de energia que operam cai de **3** (três) para apenas **1** (um). Somente o Complexo I passa a atuar, resultando na redução da quantidade de H<sup>+</sup> transportados para espaço intermembranas, fazendo com que a velocidade no fluxo de elétrons aumente visando compensar a redução no acúmulo de H<sup>+</sup> e na produção de ATP. Como consequência, há aumento no consumo de substrato (NADH). O aumento na velocidade do fluxo de elétrons é responsável pelo aumento na temperatura, conforme ocorre, de modo análogo, quando utilizamos vários equipamentos elétricos ligados em uma única tomada.

O tipo de substrato utilizado na respiração pode ser identificado pela determinação do *Quociente Respiratório* (QR), que consiste a relação entre a quantidade de CO<sub>2</sub> liberado pela quantidade de O<sub>2</sub> consumido (QR = CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>).

Substrato	Reação	QR
Carboidratos (glicose)	$C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \Rightarrow 6 CO_2 + 6 H_2O + 36 ATP$	1,0
Lípidios (ácido oléico)	$C_{18}H_{34}O_2 + 25,5 O_2 \Rightarrow 18 CO_2 + 17 H_2O$	≈ 0,7
Ácidos orgânicos e fermentação		> 1,0

Na fisiologia de pós-colheita, os frutos são classificados com *climatéricos* e *não-climatéricos*. Os primeiros, exemplificados pela banana, mamão, abacate, caqui, tomate, etc. podem ser colhidos muito verdes que mesmo assim amadurecem após a colheita. Todavia, os frutos não-climatéricos, exemplificados

pela uva, abacaxi e citros (laranja, limão, mexericas, etc), não podem ser colhidos muito verdes, pois não amadurecem em pós-colheita. O termo climatérico é uma simplificação de respiração climatérica. Aqueles que se caracterizam pela maturação em pós-colheita apresentam um segundo pico respiratório durante a maturação, acompanhado por um pico na produção de um fitormônio vegetal, o *etileno*, que está diretamente relacionado à maturação. Os frutos não-climatéricos não apresentam esse aumento, nem na respiração (segundo pico) e nem na produção do etileno.

LOGIA

ETAL

UMA APROXIMAÇÃO PRÁTICA EM MULTIMÍDIA



## 2. SEMENTES: GERMINAÇÃO E DORMÊNCIA:

A vida das plantas tem início com a germinação. As sementes utilizadas nos plantios comerciais ou mesmo as naturalmente germinadas são oriundas de frutos formados em uma estação recente ou mesmo há vários anos. As sementes são as estruturas mais adequadas para a conservação e perpetuação das espécies nas mais variadas condições ambientais, muitas das quais as plântulas (e as plantas), após a germinação, não sobreviveriam. As sementes toleram condições de seca, fogo, temperaturas elevadas e congelamento, dentre diversas condições adversas.

As sementes são constituídas pelo *tegumento* (casca), que protege a semente, pelo *endosperma* (albuminosas; ex: milho) ou *cotilédones* (exalbuminosas; ex: feijão), que acumula diferentes tipos de reservas e, pelo *embrião*, estrutura responsável pela organização da nova planta após a germinação. O embrião é uma “planta em miniatura” mantida em estado de latência, aguardando condições ambientais adequadas para a ativação do processo germinativo.

A *embebição* é a primeira etapa da germinação. Nessa fase, diversas estruturas presentes na semente contribuem para a absorção da água do meio e da atmosfera. Dentre os constituintes das sementes, o que mais contribui para a embebição é o *amido* (armazenado no endosperma), cujas características e propriedades moleculares tornam o processo de embebição um fenômeno *físico*. O elevado potencial matricio (potencial de embebição ou de adsorção) do amido resulta em uma grande capacidade de absorção de água e, conseqüentemente, na geração de forças de expansão que permitem, por exemplo, a ruptura do tegumento, de pisos de cimento e asfaltos, possibilitando a germinação e o estabelecimento das plântulas nos mais diferentes ambientes. As sementes, em estado de *quiescência* (latência) ou mesmo de *dormência*, apresentam taxas respiratórias reduzidas, minimizando o consumo das reservas. Após a embebição, caso a semente não apresente dormência, ocorre o aumento da taxa respiratória e a ativação do processo germinativo paralelamente ao consumo das reservas do endosperma.

A fase *Lag* (estacionária), segunda etapa da germinação, correspondente à fase de “montagem dos processos fisiológicos”, culmina no desenvolvimento do embrião. Em outras palavras, é nessa fase que as reservas são quebradas e a respiração, utilizando as reservas armazenadas no endosperma/cotilédones, é intensificada, permitindo o crescimento das estruturas do embrião. Como conseqüências desses eventos, ocorrem a *ruptura da casca* e a *protrusão da*

*radícula* (última etapa da germinação), processo que, sob o ponto de vista biológico, é considerado evidência da germinação das sementes. Algumas espécies, todavia, ao invés de lançarem a radícula como primeira estrutura morfológica durante a germinação, lançam, inicialmente, o *gancho plumular/coleótilos* (parte aérea) e somente depois a radícula.

As sementes são classificadas considerando diferentes categorias. Uma delas leva em conta a posição dos cotilédones durante a germinação. Na germinação *epígea*, os cotilédones ficam acima do solo, carregados pelo crescimento do hipocótilo, formando o gancho plumular. Como exemplos de plantas que apresentam esse tipo de germinação podem ser incluídos o feijão, a soja, o algodão, a mamona, etc., sendo a forma mais comum de germinação nas eudicotiledôneas. Todavia, existem exceções, como nas sementes de ervilha, que apresentam germinação hipógea. Nesse caso, o hipocótilo não alonga e sim o epicótilo. Na germinação *hipógea*, os cotilédones ficam embaixo da terra durante a germinação, sendo exemplos desse grupo a germinação das sementes de milho, trigo, arroz, etc. Esse tipo de germinação é mais comum em monocotiledôneas, embora também existam exceções nesse grupo, como em cebola, cujas sementes apresentam germinação epígea.

As sementes também podem ser classificadas quanto à tolerância à dessecação (desidratação). As sementes são formadas nos frutos com conteúdos de água muito elevados (acima de 90%). À medida que as sementes amadurecem, elas desidratam, atingindo conteúdos de umidade muito baixos em algumas espécies (entre 15 e 7%), embora elas sempre mantenham certa hidratação em seus tecidos, o que ocorre devido ao elevado potencial matricio resultante da presença de estruturas encontradas nas sementes, especialmente o amido. Uma desidratação extrema somente é observada em sementes mantidas sob dessecação. Os embriões das sementes de algumas espécies toleram essa condição de “desidratação”, suportando potenciais hídricos muito baixos, os quais as plantas estabelecidas no ambiente, após a germinação, não toleram. As sementes das espécies que apresentam tolerância à dessecação são classificadas como *ortodoxas*. Essas sementes apresentam atividade intensa dos genes *LEA* (*Late embryogenesis abundant*), que conferem tolerância à dessecação durante o estágio de sementes. As proteínas codificadas por esses genes conferem proteção às organelas e às estruturas celulares, evitando os danos causados pelo estresse hídrico. Após a germinação, a atividade desses genes reduz e a plântula pode perder a tolerância à seca observada suas nas sementes. Outras substâncias, como açúcares e alguns



osmólitos protetores e/ou compatíveis armazenadas no endosperma como, por exemplo, a prolina e a glicinabetaína, também contribuem para a manifestação da tolerância à seca. A maioria das espécies apresenta sementes *ortodoxas*, cuja capacidade germinativa é aumentada à medida que a umidade da semente é reduzida após a colheita. Todavia, as sementes de algumas espécies morrem quando são submetidas à desidratação. Nas sementes que não apresentam tolerância à dessecação, classificadas como *recalcitrantes*, a atividade desses genes não é observada ou é muito baixa. Além disso, o embrião nessas sementes parece ser mais sensível à ação dos radicais livres, sofrendo danos peroxidativos que causam a sua morte. Como exemplos de espécies que não apresentam tolerância à dessecação podem ser incluídos diversas espécies tropicais como a seringueira, o cacauieiro, o araçá e o cupuaçu, dentre outras.

As sementes também podem ser classificadas quanto ao *tipo de reserva armazenada no endosperma/cotilédones*, estruturas responsáveis pelo armazenamento do amido, óleos e proteínas. Exemplos de sementes com *endosperma amiláceo* (principalmente nos cereais) incluem o trigo, o milho, a aveia, etc. As *oleaginosas* incluem a soja, o milho, o algodão, o amendoim e a canola, dentre outros. As espécies que apresentam endospermas ricos em *proteínas* incluem o algodão, a linhaça, o amendoim, a quinoa e, especialmente, a soja. O amido é o principal carboidrato de reserva das plantas. Entretanto, algumas espécies, como a soja, por exemplo, acumulam grandes quantidades de proteínas em seu endosperma, sendo utilizadas como fonte alternativa de proteínas na nutrição humana e animal. Isso não quer dizer, todavia, que as sementes da soja, como as sementes de muitas espécies vegetais, não apresentem outras moléculas de reserva (amido e óleos). A classificação das sementes quanto à composição do endosperma/cotilédones, dependente da proporção de cada um dos substratos (amido, óleos ou proteínas) armazenados nessas estruturas.

Após a embebição, sementes não dormentes têm o processo germinativo ativado, entrando na *fase estacionária (Lag)*, quando ocorre a “montagem” dos processos fisiológicos da germinação. Nessa etapa, as reservas de amido, lipídios e proteínas são quebradas pela ação de uma série de enzimas que atuam de forma conjunta, aumentando a transformação dessas substâncias em carboidratos solúveis (açúcares), substratos específicos e imediatos da glicólise no processo respiratório.

### **Quebra do Amido:**

O *amido* é formado por diversas unidades de glicose ligadas entre si através de dois tipos de ligações químicas. Nas *regiões lineares* do amido, a ligação das moléculas de glicose é do *tipo  $\alpha$ -1,4* (ligação abaixo do plano e entre os carbonos 1 e 4). Nos pontos de ramificação, as ligações são do *tipo  $\alpha$ -1,6* (ligação abaixo do plano e entre os carbonos 1 e 6). Os tipos de ligações químicas que compõem as moléculas do amido têm influência direta no processo de quebra desse carboidrato bem como na identidade das moléculas que compõem a sua estrutura, a *amilose* (linear) e a *amilopectina* (ramificada). Quanto maior a quantidade de amilose nas moléculas de amido, mais fácil é a sua digestão (ex. amilomilho tem 80% de amilose).

A quebra do amido ocorre com a participação de *enzimas hidrolíticas e fosforolíticas*. As enzimas hidrolíticas quebram as moléculas de amido utilizando água no processo. Nos cereais, essa é a principal via de quebra das moléculas de amido. Em trigo e cevada, o quebra do amido é muito bem estudada, envolvendo a participação de enzimas hidrolíticas e fosforolíticas. O processo de germinação nessas espécies tem início com a *embebição*. Durante a embebição há um aumento na atividade *respiratória* do embrião e ativação da síntese de *giberelinas* ( $GA_1$ , principalmente) tanto nos tecidos do *embrião* quanto nos tecidos do *escutelo*. Nessas estruturas, as giberelinas ativam a síntese *de novo* de enzimas hidrolíticas e fosforolíticas, utilizando como substratos aminoácidos componentes das proteínas armazenadas na camada de aleurona das sementes. Quatro enzimas hidrolíticas são produzidas:  *$\alpha$ -amilase*,  *$\beta$ -amilase*, *enzima desramificadora* (enzima D) e  *$\alpha$ -glicosidase (maltase)*.

-  ***$\alpha$ -amilase***: A  *$\alpha$ -amilase* não é encontrada em sementes “secas”, sendo sintetizada *de novo* após a embebição e o aumento na biossíntese das giberelinas. Aparentemente, a  *$\alpha$ -amilase* é a primeira enzima a atuar na quebra das moléculas de amido, uma vez que ela é a única enzima que consegue quebrar *in vitro* moléculas intactas de amido. Ela é uma *endoamilase*, pois atua no interior da molécula do amido (não atua nas extremidades), quebrando somente ligações do tipo  *$\alpha$ -1,4*. A  *$\alpha$ -amilase* não atua nos pontos de *ramificação* (ligações  *$\alpha$ -1-6*) das moléculas de amido. A sua ação isolada não consegue quebrar totalmente as moléculas do amido, resultando na produção de algumas moléculas de glicose, maltose (duas moléculas de glicose com ligação  *$\alpha$ -1-4*) e dextrinas limites (pequenas moléculas de açúcares ainda ramificadas).

-  **$\beta$ -amilase:** Essa enzima também não ocorre em sementes “secas”, sendo sintetizada *de novo*. A  $\beta$ -amilase também quebra somente ligações do tipo  $\alpha$ -1,4, não atuando nos pontos de ramificação. Ao contrário da  $\alpha$ -amilase, a  $\beta$ -amilase é uma *exoamilase*, atuando de fora para dentro das moléculas de amido a partir da penúltima ligação  $\alpha$ -1-4 (não atua na última ligação  $\alpha$ -1-4). A ação conjunta da  $\beta$ -amilase e da  $\alpha$ -amilase otimiza a quebra das moléculas de amido, mas também não consegue quebrá-la totalmente. Como resultado da atuação dessas duas enzimas sobre as moléculas de amido são produzidas moléculas de glicose, maltose e dextrinas limites ligeiramente menores.

- **Enzima D:** A enzima D também não é encontrada em sementes “secas”, sendo sintetizada *de novo*. Ao contrário da  $\alpha$ -amilase e da  $\beta$ -amilase, que somente atuam em ligações do tipo  $\alpha$ -1,4, essa enzima atua nos pontos de ramificação (ligações  $\alpha$ -1,6), tornando as moléculas de amido lineares (não ramificadas). Como resultados da ação dessas três enzimas hidrolíticas, obtêm-se a formação de moléculas de glicose e de maltose.

- **Maltase ( $\alpha$ -glicosidase):** Essa enzima também não é encontrada em sementes “secas”, sendo sintetizada *de novo*. Ela atua especificamente sobre as ligações  $\alpha$ -1,4 da maltose, produzindo duas moléculas de glicose.

A ação conjunta dessas quatro enzimas hidrolíticas resulta na produção de moléculas de glicose a partir das moléculas de amido. A glicose é um importante substrato da glicólise e, conseqüentemente, da respiração aeróbia, possibilitando o crescimento do embrião, a ruptura do tegumento e das camadas de solo e o desenvolvimento de uma nova planta. A glicose é utilizada como substrato para a síntese de sacarose.

Além das enzimas hidrolíticas, a *fosforilase do amido* (enzima fosforolítica) complementa a quebra das moléculas de amido, tendo como produto da sua ação catalítica *glicose-6P*, principal substrato da Rota das Pentoses Mono-Fosfato (RPMF) assim como alguns intermediários da via glicolítica. Essa enzima também não é pré-existente em sementes “secas”. Ela é uma *exoamilase*, com atuação a partir da última ligação  $\alpha$ -1,4.

### **Quebra dos Lipídios:**

Nas sementes, os lipídios são armazenados principalmente como óleos (triglicerídeos), formados por moléculas de *glicerol*, um álcool de três carbonos, esterificado a três moléculas de *ácidos graxos*. Nas sementes, os óleos são armazenados em organelas denominadas *oleossomos* (esferossomos), localizadas

no endosperma ou nos cotilédones. Essas organelas apresentam meia unidade de membrana (não formam bicamada lipídica), sendo estabilizadas por pequenas moléculas de proteínas denominadas *oleosinas*. Após a embebição, também com a participação de porções do escutelo e do embrião, ocorre a síntese de giberelinas que estimulam a síntese *de novo* de *lipases*, enzimas que quebram as ligações ésteres, liberando os ácidos graxos do glicerol. Os ácidos graxos liberados se *difundem* através da membrana dos oleossomos para o interior de uma organela encontrada exclusivamente em vegetais, os *glioxissomos*. Essa organela apresenta uma unidade completa de membrana (bicamada lipídica e proteínas em mosaico). Nos *glioxissomos*, ocorrem dois importantes processos de quebra dos lipídios, a  $\beta$ -oxidação e o ciclo do *glioxilato*. Na  $\beta$ -oxidação, cada molécula de ácido graxo é quebrada originando moléculas de *Acetil CoA* em quantidade equivalente à metade do número de carbonos presentes na molécula do ácido graxo oxidado (a oxidação do ácido esteárico-18:0, por exemplo, gera 9 moléculas de *Acetil CoA*). Nas reações, são produzidas também moléculas de água e de NADH. O *Acetil CoA* produzido na  $\beta$ -oxidação serve de substrato para outro ciclo existente nos glioxissomos, o ciclo do *glioxilato*. Esse ciclo apresenta alguns intermediários comuns ao Ciclo de Krebs (ciclo do ácido cítrico), contando com seis reações químicas, que, em essência, têm a função de transformar *Acetil CoA* em *succinato*. O *succinato* é, então, exportado para a mitocôndria, organela que apresenta duas unidades de membranas (duas bicamadas lipídicas e proteínas na forma de mosaico), onde ele é convertido em *malato*, no Ciclo de Krebs. O *malato* é transportado para o *citossol*, sendo convertido em *oxalacetato* e, posteriormente, em *fosfoenol-piruvato* (PEP), em reações que consomem NAD<sup>+</sup> (na primeira reação) e ATP (na segunda reação), liberando CO<sub>2</sub>. O transporte do malato para fora da mitocôndria permite a entrada de novas moléculas de *succinato* provenientes dos glioxissomos. A partir do PEP, a glicólise passa, então, a operar no sentido inverso, produzindo glicose, processo denominado *gliconeogênese* ou glicólise reversa. O produto final da *gliconeogênese* é *sacarose*, molécula formada a partir da *glicose*. A sacarose, então, é transportada para os cotilédones, possibilitando o crescimento dos tecidos da plântula em resposta à ativação do metabolismo respiratório. O processo descrito acima é conhecido para a germinação de sementes de mamona (*Ricinus comunis*), sendo provavelmente similar em outras sementes que armazenam lipídios. Em mamona, o endosperma degenera após as reservas de lipídios e de proteínas serem totalmente consumidas. Contudo, nem todas as sementes transformam quantitativamente óleos em carboidratos. Em muitas oleaginosas, como em sementes de girassol



(*Helianthus annuus*), algodão (*Gossypium hirsutum*) e abóboras (*Curcubita* sp.), os cotilédones diferenciam em órgãos fotossintetizantes após as reservas serem consumidas. Nesses tecidos, apenas uma parte dos lipídios é convertida em carboidratos exportáveis. A maior parte dos carbonos derivados dos lipídios permanece nos cotilédones, contribuindo para a síntese dos cloroplastos e de outras estruturas celulares durante o enverdecimento. Durante a quebra dos lipídios observam-se alterações no predomínio das organelas celulares, havendo redução na quantidade de *glioxissomos* e, em contraste, aumento na quantidade de *peroxissomos*. Essa transição é explicada pela redução na necessidade de quebra de lipídios e pelo aumento na produção de metabólitos tóxicos relacionados à *fotorrespiração*, especialmente, o  $H_2O_2$ . Essa transição é um marco *cito-fisiológico* da passagem do estado *heterotrófico* para o *autotrófico* durante a germinação e estabelecimento das novas plântulas.

#### **Quebra das Proteínas:**

Durante a fase *Lag* da germinação das sementes, as proteínas também são quebradas em aminoácidos, servindo de substratos para a síntese de proteínas e enzimas ou como substratos respiratórios, fornecendo intermediários glicolíticos ou do Ciclo de Krebs. As proteínas são armazenadas nas sementes nas formas de *globóides* (fitina) ou de *crystalóides* (proteínas birrefringentes). Em cereais as proteínas são acumuladas na camada (ou grãos) de aleurona.

#### **Dormência:**

As sementes quando recém-colhidas nem sempre germinam de imediato. Algumas delas passam, logo após a dispersão, por um período de *dormência*. A *dormência* se caracteriza pela *incapacidade* de germinação das sementes mesmo que as *principais condições ambientais* estimuladoras do processo estejam *disponíveis*. O conceito de dormência difere do conceito de *quiescência*, que se caracteriza pela *não germinação* das sementes devido à *ausência de algum fator ambiental* necessário a sua ativação. Por exemplo, uma semente de feijão mantida em uma placa de Petri sem água, encontra-se em quiescência e não em dormência, uma vez que se for fornecida água ela germinará imediatamente. O contrário acontece com as sementes verdadeiramente dormentes, cujo fornecimento de água e de outros fatores ambientais para as suas sementes não resulta em germinação imediata.

A ocorrência de dormência em sementes tem caráter adaptativo, uma vez que ela geralmente evita a germinação em condições adversas para a plântula. A

*dormência* é comum em espécies não domesticadas, sendo, entretanto, inadequada para as sementes de espécies comerciais (agrícolas), que são selecionadas para germinarem rapidamente quando expostas a condições ambientais favoráveis. A dormência em sementes pode ser classificada em dois tipos: primária e secundária.

A *dormência primária*, geneticamente controlada, é resultante de mecanismos que evitam a germinação das sementes sob condições desfavoráveis ou que prolongam o tempo necessário à germinação, aumentando a possibilidade de dispersão e, conseqüentemente, reduzindo a competição intra-específica. Os principais tipos de dormência primária são associados à *casca* (tegumento da semente), ao *embrião* (dormência interna) ou a *ambos*.

A *casca* (tegumento) da semente pode ser o fator causador da dormência. As sementes podem apresentar *casca dura* rica em esclereídeos (estruturas que endurecem o tegumento), ou *impermeável* devido à presença de tricomas (apêndices da epiderme presentes em diversos órgãos das plantas), e ceras (moléculas hidrofóbicas que impedem a embebição). A *escarificação* é o principal procedimento utilizado para eliminar estas causas de dormência, podendo ser realizada pelo tratamento das sementes com ácidos (química), água quente (térmica), impactos e lixas (mecânica), etc., fazendo com que o material que compõe a estrutura do tegumento seja lixado, arranhado e/ou quebrado e enfraquecido, facilitando a embebição e a posterior protrusão da radícula ou do gancho plumular. A passagem das sementes pelo trato digestivo de animais é uma forma de *escarificação mecânica/química/térmica* natural. Como exemplos de espécies que apresentam dormência associada à *casca* podem ser incluídos o flamboyant (ceras), o pessegueiro (drupa), a manga e o estilosantes, dentre outros. Quando a *casca* da semente é retirada e ela germina, a causa da dormência seguramente não é embrionária. Quando ela mesmo assim não germina, a dormência pode ter causas embrionária ou tegumentar/embrionária.

A classificação dos tipos de dormência é bastante complexa. Alguns autores associam a *dormência embrionária* a causas ligadas ao embrião ou a outras porções internas ao tegumento da semente, principalmente ao endosperma. Algumas espécies apresentam concentrações elevadas de *substâncias inibidoras*, como o *HCN* (Rosaceae), a presença de *substâncias solúveis*, como os fenóis e as cumarinas (substâncias solúveis em água e “lavadas” pelas chuvas), a presença de *etileno* (espécies dos Cerrados) e, principalmente, a presença de *ácido abscísico* (inibidor da  $\alpha$ -amilase, principal enzima relacionada à quebra das reservas do endosperma e,

consequentemente, à germinação). Outras espécies germinam somente após a ocorrência de queimadas, o que pode estar associado à eliminação da casca, mas, também, a efeitos promotores do etileno. Em desertos, algumas espécies somente germinam após uma seqüência de chuvas, que “lavam” substâncias inibidoras, assegurando realmente se tratar de uma estação chuvosa. O período de dormência também parece estar associado à necessidade de desidratação das sementes (ortodoxas), o que por um lado, evita a germinação ainda dentro dos frutos, como ocorre, por exemplo, com sementes de feijão, que podem germinar no interior das vagens quando ocorrem chuvas intensas na época da colheita. Esse fato está associado, principalmente, aos baixos níveis de ácido abscísico nas sementes dessa planta.

Em outras espécies, é o *embrião* que efetivamente encontra-se em dormência, o que geralmente está associado ao seu *desenvolvimento incompleto* (embrião mal-formado), como é comum em espécies de clima temperado que apresentam crescimento rápido de frutos. Um exemplo da ocorrência desse tipo de dormência são as sementes de pessegueiro, que não germinam imediatamente após a dispersão. A germinação das sementes do pessegueiro exige a prática da *estratificação*, que consiste na manutenção das sementes (amêndoa) sob *refrigeração* (temperatura entre 7-10°C), até que o embrião complete o seu desenvolvimento (15-30 dias). Posteriormente, a semente deve ser colocada para germinar em temperatura acima de 20°C, indicando que as baixas temperaturas da estratificação diferem das ideais para a germinação. A dormência embrionária também evita germinação das sementes do pessegueiro e de outras espécies de clima temperado durante o inverno, o que certamente levaria as suas plântulas à morte.

Uma semente após ter a dormência superada passa ao estado de quiescência, uma vez que esse processo (superação da dormência) pode ocorrer em uma época em que as condições ambientais necessárias à germinação não estejam disponíveis. Assim que elas se tornam disponíveis, a semente germina desde que não tenha entrado em dormência secundária.

A dormência primária é uma característica específica e, portanto, geneticamente controlada. Ela é decorrente de mecanismos de defesa que evitam a germinação das sementes em condições desfavoráveis ou que prolongam o tempo necessário à germinação, aumentando a probabilidade de dispersão e, consequentemente, reduzindo a competição intra-específica. Todavia, as sementes também podem apresentar dormência *secundária*, processo geralmente associado

a *condições inadequadas de armazenamento* das sementes em depósitos (ensacadas) ou mesmo no solo (no banco de sementes), podendo ocorrer mesmo em sementes que tipicamente não apresentam dormência. A dormência secundária pode se manifestar em situações de grande variação na UR<sub>ar</sub>, onde o tegumento da semente é submetido a um processo de “estica-encolhe” que pode causar endurecimento da casca, dificultando ou impedindo a germinação. Além disso, a atividade respiratória aumenta e diminui, reduzindo a quantidade de reservas para a germinação quando as sementes são efetivamente plantadas. Em condições naturais, a dormência secundária se manifesta em sementes soterradas em profundidades que impedem a germinação e, mesmo embebidas, essas sementes não germinam. Caso a semente seja trazida à superfície por uma aração do solo, por exemplo, ela germina imediatamente.

#### **Vigor e Longevidade das Sementes:**

O vigor se constitui na *capacidade* e nos *atributos fisiológicos* que *culminam* na *germinação* de uma semente em *percentuais próximos* aos obtidos logo após a *dispersão*. Essa capacidade reduz com o passar do tempo, sendo influenciada pelas condições de armazenamento. A *longevidade* das sementes está diretamente relacionada à manutenção do vigor. Existem relatos de sementes germinando após mais de 150 anos em plantas mantidas em herbários, bem como casos ainda mais espetaculares, associados à germinação de sementes encontradas em catacumbas de faraós ou soterradas em regiões turfosas. Nesses diferentes ambientes, uma característica comum é a manutenção quase constante das condições de UR e de temperatura, o que reduz a atividade metabólica, evitando a germinação.

#### **Fotoblastismo:**

Denomina-se **fotoblastismo** à influência da radiação luminosa (qualidade e intensidade) sobre a germinação das sementes. As sementes que germinam somente em presença de luz são denominadas *fotoblásticas positivas*, enquanto que, aquelas que germinam somente no escuro, são chamadas *fotoblásticas negativas*. Existem, ainda, sementes *neutras* ou *não-fotoblásticas*, que correspondem à maioria das sementes, que germinam tanto em presença de luz quanto no escuro.

O fotoblastismo é resultante da ação de um pigmento encontrado em plantas, o *fitocromo*. Os avanços mais importantes na identificação do fitocromo



foram realizados entre os anos de 1945 e 1960, com a participação expressiva de pesquisadores do Departamento de Agricultura dos EUA. Os pesquisadores, liderados por Harry Borthwich e Sterling Hendricks obtiveram resultados espetaculares em trabalhos com sementes de alface da variedade *Grand Rapids* expostas a tratamentos alternados com luzes vermelha e vermelho-longo. Aproximadamente 100% das sementes que recebiam luz vermelha germinavam ao final dos tratamentos. Contudo, as sementes que recebiam luz vermelho-longo apresentavam redução intensa na germinação. Quando as sementes eram expostas à luz vermelho-longo imediatamente após terem sido tratadas com luz vermelha, a germinação das sementes era inibida. O contrário ocorria quando um *flash* de luz vermelha era dado às sementes após o tratamento com luz vermelho-longo. Nessa condição, a germinação era aumentada. Através de tratamentos repetidos, alternando exposições rápidas com as luzes vermelha e vermelho-longo, eles estabeleceram que a qualidade da luz, ou seja, a faixa do espectro luminoso aplicada por último é que determinava a germinação ou não das sementes, sendo a luz vermelha promotora da germinação, enquanto que a luz vermelho-longo atuava inibindo esse processo.

Moléculas de fitocromo são encontradas em todos os órgãos das plantas, inclusive nas sementes. O fitocromo é uma cromoproteína solúvel com massa molecular de aproximadamente 250 kDa. Ele ocorre na forma de um dímero composto por duas subunidades equivalentes. Cada subunidade apresenta dois componentes: uma molécula absorvedora de luz, o *cromóforo*, e uma cadeia polipeptídica, denominada *apoproteína*. O cromóforo do fitocromo é formado por um *tetrapirrol de cadeia aberta*, denominado *fitocromobilina*. Esse, por sua vez, se liga à proteína através de uma ligação tioéter que é acoplada a um resíduo de cisteína (CYS<sub>321</sub>). Em função do espectro de absorção do fitocromo ser bastante parecido com o das clorofilas, assim como em função das concentrações das clorofilas serem muito elevadas (*pigmento de massa*), a extração do fitocromo (*pigmento informacional*) deve ser realizada a partir de plantas estioladas (crescidas no escuro). Em plantas estioladas o fitocromo encontra-se presente na forma que absorve a luz vermelha, denominada **Fv**. Esta é a forma de fitocromo sintetizada no escuro. A forma Fv, que é **azul**, é convertida pela luz vermelha para a forma que absorve luz vermelho-longo, denominada **Fve**, que, por sua vez, é **azul-esverdeada**. A forma Fve, pode ser convertida de volta para a forma Fv pela ação da luz vermelho-longo. Esta fotorreversibilidade é a propriedade mais importante do fitocromo. Embora as duas formas de fitocromo sejam referidas pelos seus picos

máximos de absorção no vermelho (V) ou no vermelho-longo (VL), o espectro de absorção das formas Fv e Fve se sobrepõem significativamente na região do vermelho, sendo que a forma Fv também absorve uma pequena quantidade de luz na região do VL. Em função disso, há um equilíbrio dinâmico entre as duas formas de fitocromo e a proporção de fitocromo na forma Fve, após a saturação da irradiação com luz V, é de apenas 85% e não de 100% como seria esperado caso os espectros não sofressem sobreposições. De modo similar, uma pequena quantidade da luz V absorvida pela forma Fve torna impossível a conversão de todo o Fve para a forma Fv em resposta à aplicação de um espectro amplo de luz VL. Ao invés disso, um equilíbrio de 97% de Fv e de 3% de Fve é obtido. A proporção entre as formas ativas e inativas após saturação com luzes V ou VL é denominada **estado fotoestacionário**.

A fotoconversão do Fv para Fve e do Fve para o Fv não é um fenômeno que se processa em uma única etapa. Várias formas espectrais de vida curta são produzidas em seqüência antes que uma das formas, Fv ou Fve, seja gerada. Sob condições de luz branca, tanto o Fv quanto o Fve tornam-se excitados e, portanto, formas intermediárias são produzidas, correspondendo a uma fração considerável do conteúdo total do fitocromo. Tais intermediários podem ser importantes no início ou na ampliação das respostas relacionadas ao fitocromo, sob condições de iluminação natural. Em sementes desidratadas, o último passo da conversão do Fv para Fve é impedido, sendo que, após a re-hidratação, ocorre a restauração completa da molécula. Em adição à absorção na região do vermelho, ambas as formas do fitocromo também absorvem na região do espectro correspondente ao azul. Portanto, os efeitos do fitocromo também podem ser ativados pela luz azul, que pode converter o Fv em Fve.

Algumas espécies domesticadas e um grande número de espécies não domesticadas apresentam o fenômeno de fotoblastismo, o que para algumas espécies está relacionado à proteção contra a germinação em ambientes com falta de luz, fator que limita a fotossíntese. A ação do fitocromo é fundamental, uma vez que ele consegue “medir” não apenas a presença de radiação (intensidade), mas, principalmente, a qualidade da radiação que chega à superfície onde se encontram as sementes. Tal fato explica, por exemplo, o aparecimento de novas espécies de plantas (não observadas previamente em determinada área) após a realização de aragem do solo e de desmatamentos, que, respectivamente, expõe sementes soterradas e altera a qualidade espectral incidente sobre as mesmas.

### ***Dormência e Quebra de Dormência em Plantas de Clima Temperado:***

As plantas de clima temperado precisam entrar em dormência para que as suas gemas não sejam queimadas pelo congelamento causado pela neve ou pelo gelo durante o inverno, e para que, posteriormente, os frutos sejam formados na primavera. Nessas plantas, os *sinais* para a entrada em dormência são fornecidos pela *redução na temperatura* e, principalmente, pela redução no *fotoperíodo*. O principal sensor desse fenômeno também é o *fitocromo*, que localizado nas folhas, pode efetivamente “medir” o comprimento do dia, mandando informações para o metabolismo da planta que induz a ativação/inibição de genes específicos relacionados à *senescência*, promovendo a queda das folhas e a proteção das gemas. A quebra da dormência das gemas dessas plantas ocorre em resposta ao *número de horas de frio acumuladas* pelas gemas, sendo eficientes temperaturas entre 7-2°C. Temperaturas elevadas (acima de 10°C) durante o processo de acúmulo de horas de frio podem reverter o acumulado, resultando em redução na frutificação. Algumas espécies típicas de latitudes muito grandes são muito exigentes em relação ao atendimento do número de horas de frio para a sua frutificação. Outras, de latitudes menores, frutificam em temperaturas mais elevadas (exigem menor número de horas de frio). Tal fato explica porque, atualmente, o Brasil é um país auto-suficiente na produção de algumas variedades mais precoces de maçãs, que até a década de 80 eram, quase na totalidade, importadas. A aplicação de *dinitro-orto-cresol* (DNOC), um composto fenólico misturado ao óleo mineral, pode suprir parte das horas de frio exigidas por algumas espécies, permitindo a floração e a frutificação em plantas de clima temperado mesmo em anos apresentando invernos pouco rigorosos ou em latitudes menores.



LOGIA

ETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA





### 3. FOTOSSÍNTESE:

A **fotossíntese** é o processo através do qual as plantas e alguns outros organismos transformam energia luminosa em energia química, processando o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), água (H<sub>2</sub>O) e minerais em compostos orgânicos e produzindo oxigênio gasoso (O<sub>2</sub>). A principal função da fotossíntese é a produção de carboidratos (açúcares solúveis), que são os “combustíveis” utilizados no processo respiratório e também precursores de metabólitos primários e secundários. A fotossíntese ocorre não apenas nas fanerógamas, mas, também, em criptógamas, algas e bactérias.

A fotossíntese pode ser definida como um processo de “síntese em presença de luz”. Todavia, essa definição é uma simplificação do intrincado sistema de vias metabólicas, pigmentos, enzimas, gases e estruturas morfológicas envolvidas na sua realização, conforme veremos ao longo desse capítulo. A equação a seguir resume o processo fisiológico da fotossíntese:



A fotossíntese compõe-se de três processos parciais:

- **Processo fotoquímico:** resulta na conversão da energia luminosa em energia química, com a formação de ATP e de NADPH, envolvendo a participação dos pigmentos (na absorção da energia radiante) e das coenzimas (transportadoras de elétrons);
- **Processo físico de transporte dos gases:** especialmente do CO<sub>2</sub> e do O<sub>2</sub>, que por difusão, são transportados do meio externo até o estroma, onde ocorrem as reações bioquímicas da fotossíntese e;
- **Processo bioquímico:** relacionado à redução do CO<sub>2</sub> a açúcares, envolvendo várias reações químicas e enzimas.

#### **Processo ou Fase Fotoquímica:**

Em 1672, Isaac Newton propôs que a luz era formada por *feixes de partículas emitidas por uma fonte de radiação (componente corpuscular)*. Albert Einstein, usando conceitos de Max Planck, conseguiu demonstrar que os *feixes de luz* são pequenos *pacotes de energia*, conhecidos como *fótons*, explicando, assim, o fenômeno da *emissão fotoelétrica*. James Clerk Maxwell, ainda no século XIX, provou que a velocidade de propagação de uma onda eletromagnética no espaço equivalia à velocidade de propagação da luz (aproximadamente 300.000 km/s). Foi

de Maxwell a afirmação de que a luz é uma “modalidade de energia radiante” que se “propaga” através de *ondas eletromagnéticas*. Essas considerações levaram à elaboração da “Teoria da dualidade onda-partícula”, pela qual a luz apresenta características tanto *corpusculares* quanto *ondulatórias*. A luz corresponde a uma pequena fração da *radiação eletromagnética, perceptível ao olho humano*, sendo constituída por *movimentos ondulatórios emitidos na forma de pacotes de energia (fótons)*. Num sentido mais geral, a *luz visível* pode ser definida como qualquer *radiação eletromagnética* que se situa *entre* as gamas do *ultravioleta* e do *infravermelho*.

Dentre várias características da luz, duas são muito importantes: o *brilho* (intensidade) e a *cor* (frequência). A medição da radiação luminosa pode ser realizada com a utilização de diferentes equipamentos, quantidades e unidades, como, por exemplo, pelo brilho (watts/cm<sup>2</sup>), iluminância ou iluminação (lux), fluxo luminoso (lumen) e/ou intensidade luminosa (candela). Todavia, para as plantas, atualmente, a radiação luminosa é medida em termos da densidade de fluxo de fótons de radiação fotossinteticamente ativa (RFA), cuja unidade é *µmoles de fluxo de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>*.

<b>Ambiente ou fonte luminosa:</b>	<b>Fator de Conversão: watts m<sup>-2</sup> para µmoles de fluxo de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (multiplicar por:)</b>	<b>Fator de Conversão: K Lux (400 700 nm) para µmoles de fluxo de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (multiplicar por:)</b>
Luz solar (dia limpo)	4,6	18
Luz solar (dia nublado)	4,2	19
Lâmpada de metal halide (lâmpadas de projetores)	4,6	14
Lâmpada fluorescente branca	4,6	12
Lâmpada incandescente	5,0	20

Para se ter uma idéia, em termos de brilho, a intensidade de radiação solar na superfície externa da terra (denominada insolação ou brilho) é de 1.360 watts m<sup>-2</sup>. Comparativamente, a intensidade de radiação de uma lâmpada de 100 watts, a 3 metros de distância, é de 0,88 watts/m<sup>2</sup>. Em termos de densidade de fluxo de fótons, o valor correspondente ao brilho de 1.360 watts/m<sup>2</sup> da radiação solar seria

superior a 27.000  $\mu\text{moles}$  de fluxo de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , o que é uma intensidade muito maior que os 1800  $\mu\text{moles}$  de fluxo de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (corresponde a 400 watts  $\text{m}^{-2}$ ) de radiação global que efetivamente chegam à superfície da terra (ao nível do mar). Esse valor varia com a latitude, altitude e com as condições climáticas. Isso mostra que a maior parte da radiação proveniente do sol é filtrada pelas camadas superiores da atmosfera, atenuando a energia que chega até a superfície da terra, onde as plantas são cultivadas. A *radiação UV* emitida pelo sol é *filtrada pela camada de ozônio e pelo oxigênio*, enquanto que a *radiação infravermelha (calórica)* é *filtrada pelo vapor de água e pelo CO<sub>2</sub>*. De toda a radiação solar que efetivamente entra na terra, apenas 45% cai na faixa espectral de 380-710 nm, que corresponde à *radiação fotossinteticamente ativa* (efetivamente considerada entre 400 e 700 nm).

A energia emitida por diferentes fontes de radiação eletromagnética pode ser determinada pela Lei de Planck, que demonstra como as diferentes faixas de cor do espectro de radiação visível correspondem a diferentes intensidades de energia (frequência). Segundo Lei de Planck, a energia ( $E$ ) de um fóton é medida pela frequência ( $\nu$ ) de emissão de radiação desse fóton. A frequência é definida pela relação entre a velocidade da luz ( $c$ ) e o comprimento de onda ( $\lambda$ ). Em função disso, a energia de um fóton pode ser representada por:

$$E = h \nu, \text{ onde:}$$

$$\Rightarrow \nu = c/\lambda$$

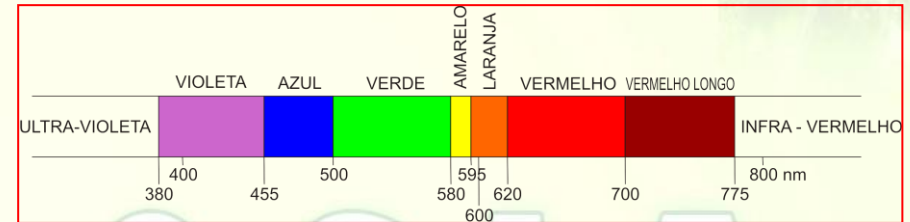
$\Rightarrow h$  = constante de Planck; constante física usada para descrever o tamanho dos quanta (= fótons), tendo papel fundamental na Teoria de Mecânica Quântica (denominação homenageia a Max Planck, um dos fundadores da Teoria Quântica). Seu valor é de aproximadamente de  $h = 6,6 \times 10^{-27} \text{ erg s}$ . Logo, a energia de um fóton (denominada *quantum*) pode ser determinada pela equação:

$$E = h \cdot c/\lambda$$

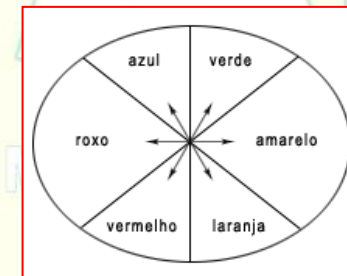
Utilizando a equação que representa a Lei de Planck, é possível concluir que a energia de um fóton ( $E$ ) é *inversamente proporcional* ao seu *comprimento de onda* ( $\lambda$ ). Portanto, quanto menor for o comprimento de onda, maior será a energia do fóton. Em contraste, quanto mais longo o comprimento de onda, menor é a sua energia.

O espectro de radiação pode ser obtido com a utilização de *espectrorradiógrafos*, que delimitam as faixas de radiação correspondentes à

energia emitida pela fonte de radiação utilizada. Um resumo do espectro de radiação emitido pelo sol é apresentado a seguir:



Para que a energia luminosa seja utilizada pelos sistemas vivos, é necessário que ela seja absorvida. Nas plantas a absorção dessa energia é realizada pelos pigmentos dos cloroplastos. O padrão de absorção da luz por parte dos pigmentos é denominado espectro de absorção, sendo obtido com a utilização de *espectrofotômetros*. Segundo a *Lei da Equivalência Fotoquímica*, cada pigmento pode absorver apenas um fóton, sendo que este *fóton estimula apenas um elétron de cada vez*. Normalmente, os pigmentos apresentam picos de absorção nas regiões correspondentes às suas cores complementares, conforme o modelo abaixo:



A ativação da fotossíntese ocorre somente se a plântula formada estiver exposta à luz após a germinação. As sementes germinadas no escuro ou em intensidade luminosa reduzida originam plântulas que apresentam aparência pálida e translúcida, quase etérea. Essa forma "*estiolada*" difere bastante daquela observada em plântulas crescidas na presença da luz, as quais possuem



crescimento reduzido, folhas bem desenvolvidas e coloração verde. O estiolamento, do francês *étiole*, que significa *alvejar*, é uma condição que envolve o aumento do alongamento caulinar, o desenvolvimento foliar reduzido e a ausência de clorofila. Esse programa de desenvolvimento ativado sob condições de escuridão ou sob intensidade luminosa reduzida denomina-se *escotomorfogênese*, derivada de *skotos*, palavra de origem grega que significa *escuridão*. A princípio, essa resposta diferenciada foi atribuída e associada à fotossíntese. Entretanto, posteriormente, constatou-se que a transformação de uma plântula estiolada em uma planta verde (enverdecimento), ao contrário dos processos relacionados à fotossíntese, ocorre mesmo sob condições de baixa intensidade de fluxo de fótons e em tempo reduzido de exposição à luz. Algumas horas após a aplicação de um único *flash* (exposição rápida) de intensidade luminosa reduzida, plântulas crescidas no escuro apresentam reduções na taxa de extensão do caule, início de abertura do gancho apical e ativação da biossíntese de pigmentos cloroplastídicos. A luz atua, portanto, como um sinal, induzindo mudanças na forma da plântula que cresce embaixo do solo, promovendo um crescimento adaptativo sob condições de luz plena. A fotossíntese não pode dirigir tal processo, uma vez que a *clorofila* ainda não está presente durante essa fase do desenvolvimento.

Aparentemente, a estiolação, que se manifesta pelo crescimento longitudinal rápido e intenso observado em plântulas mantidas no escuro, é um mecanismo utilizado no sentido de possibilitar, o mais rápido possível, que o ápice das plantas seja exposto à luz, desencadeando o processo fotossintético antes que o suprimento de reservas armazenadas no endosperma seja exaurido, caracterizando uma importante estratégia de sobrevivência. Em contraste à estratégia de afluência, a *fotomorfogênese*, observada na presença de luz, é usada quando a planta utiliza suas reservas o mais rápido possível, visando à formação de estruturas requeridas para a fotossíntese e para o transporte de água e de assimilados. Muito provavelmente, as bases genéticas da *escotomorfogênese* foram desenvolvidas desde o advento das plantas com sementes, objetivando a otimização da informação gênica para o desenvolvimento pós-embriônico do esporófito.

Estudos genéticos realizados com plantas mutantes de *Arabidopsis* resultaram na identificação dos genes *COP* (*C*ONstitutive *P*hotomorfogênic), *DET1* (*D*e-*E*tioleated) e *FUS* (*F*USCA). Esses estudos, conduzidos em escuridão completa, resultaram na obtenção de indivíduos com fenótipos similares aos observados em plântulas crescidas em presença de luz. A natureza recessiva das mutações *cop/det/fus*, juntamente com seu fenótipo, indicam que *COP/DET/FUS* atuam como

repressores da fotomorfogênese. Os genes *COP/DET/FUS* são inativados por sinais luminosos percebidos pelos fotorreceptores (fitocromo e criptocromo). Esses mutantes, aparentemente, controlam um subconjunto de processos associados à resposta fotomorfogênica e podem atuar em pontos das vias de desenvolvimento localizados posteriormente à definição primária entre a *escotomorfogênese* e a *fotomorfogênese*. Além disso, a natureza recessiva desses genes indica que os seus produtos funcionam na repressão da fotomorfogênese no escuro, enquanto que a presença da luz, percebida por fotorreceptores múltiplos, resulta em inativação das suas funções repressivas. Todos os genes *COP/DET/FUS* identificados operam através da repressão direta ou indireta da transcrição dos genes induzidos pela luz e, dessa forma, reprimem a via normal da *fotomorfogênese* no escuro.

Após o recebimento da luz, a plântula em desenvolvimento reduz o seu crescimento (estiolamento) e fica verde. Essa transformação envolve a produção de dois principais pigmentos, as *clorofilas* e os *carotenóides*. Todavia, antes mesmo que esses pigmentos sejam formados, diversas transformações ocorrem na estrutura de organelas presentes nos tecidos da plântula. A presença de um tipo específico de plastídio, denominado *pró-plastídeo*, é observada no embrião das sementes (antes da germinação), nas folhas jovens e nos meristemas. Esse tipo de plastídio apresenta dupla-membrana, DNA próprio (organelas semi-autônomas), ribossomos (do tipo 70S) e um corpo pró-lamelar (emaranhado de membranas que originam os tilacóides ou lamelas). A presença de cloroplastos 70S, DNA próprio e a existência de dupla-membrana são características que, tal como nas mitocôndrias, também sugerem uma provável origem *endossimbiótica* para os *pró-plastídios*. Os *pró-plastídios* são os precursores de todos os plastídios encontrados nas plantas. Durante o desenvolvimento das plantas os *pró-plastídios* podem seguir duas vias. A definição da via de desenvolvimento depende das condições de germinação, em presença de luz ou no escuro. Quando a germinação ocorre no escuro, os *pró-plastídeos* originam os *etioplastos* (característicos das plantas estioladas). Quando a germinação ocorre em presença de luz, eles originam os *cloroplastos* (organelas que acumulam clorofila e carotenóides). Os *pró-plastídeos* também podem dar origem aos *cromoplastos* (plastídios coloridos que acumulam carotenóides, como o licopeno, da casca do tomate, e o  $\beta$ -caroteno, da cenoura) e aos *leucoplastos* (plastídios incolores, como os amiloplastos). Uma característica marcante dos plastídios é a sua capacidade de interconversão. Assim, os *cloroplastos* podem originar *etioplastos*, quando a planta é trazida da luz para o escuro. O inverso acontece, por exemplo, com a batata-inglesa, que apresenta *leucoplastos*. Seus

tubérculos podem ficar com a casca verde (transformação de amiloplastos em cloroplastos) quando senescentes ou mantidos próximas às fontes de luz. Os *cromoplastos*, ao contrário, são considerados plastídios senescentes e, normalmente, não originam outros tipos de plastídios, embora existam algumas exceções, como na laranja pêra-rio, por exemplo, que fica com sua casca verde em pós-colheita (quando colhida madura a sua casca é amarela).

Os *cloroplastos* são organelas que apresentam *dupla-membrana* (*envelope do cloroplasto*), *estroma*, uma matriz fluida e rica em água, e um conjunto de membranas internas (*tilacóides*) que ficam imersas no estroma. Os tilacóides apresentam composição lipídica diferenciada e rica em *ácidos graxos polinsaturados*, que confere extrema fluidez, embora torne os tilacóides muito sensíveis à ação peroxidativa causada por radicais livres. As porções não-empilhadas das membranas dos tilacóides, que ficam em contato direto com o estroma, são denominadas *tilacóides do estroma*. As porções prensadas ou empilhadas são denominadas *tilacóides do grana*. Os tilacóides, ao contrário do que a literatura sugere, não se tratam de moedas empilhadas. Eles são, na verdade, formados por dobramento das membranas, o que permite a formação de um ambiente, no interior dessas dobras, denominado *lúmen do tilacóide*. Entre o *lúmen* e o *estroma* é que se forma o *gradiente de potencial eletroquímico na fotossíntese*, utilizado como força motriz para a produção de ATP, molécula fundamental para a transformação do CO<sub>2</sub> atmosférico em açúcares. Os pigmentos envolvidos na fotossíntese se associam às membranas dos tilacóides, localizando-se nos *fotossistemas* (serão estudados mais a frente), não sendo encontrados, todavia, no estroma ou mesmo nas duas membranas (envelope) dos cloroplastos. Isso é possível em função da natureza *hidrofóbica* (apolar) dos pigmentos, que se “ligam” às membranas (clorofilas) ou são solúveis (carotenóides) nas porções hidrofóbicas das membranas. O processo fotoquímico da fotossíntese acontece nas membranas dos tilacóides (nos fotossistemas), enquanto que o processo bioquímico ocorre no estroma.

Os principais pigmentos da fotossíntese são as *clorofilas*, os *carotenóides* e as *ficobilinas*. Os dois primeiros são lipossolúveis e característicos das angiospermas. As ficobilinas são hidrossolúveis, sendo encontradas em bactérias e em algas. A *clorofila* é o pigmento responsável pela coloração verde das folhas das plantas. Esse pigmento *absorve luz* nos comprimentos de onda correspondentes ao *azul-violeta* e, principalmente, no *amarelo-vermelho*. Os *carotenóides* são *pigmentos solúveis em lipídios*, apresentando coloração *vermelha, laranja* ou

*amarela*, sendo encontrados em plantas e em cianobactérias. Em tecidos verdes, a coloração dos carotenóides é mascarada pela pigmentação das clorofilas. A terceira classe de pigmentos é constituída pelas ficobilinas, encontradas nas cianobactérias e em cloroplastos de algas vermelhas, que, diferentemente dos carotenóides, são solúveis em água.

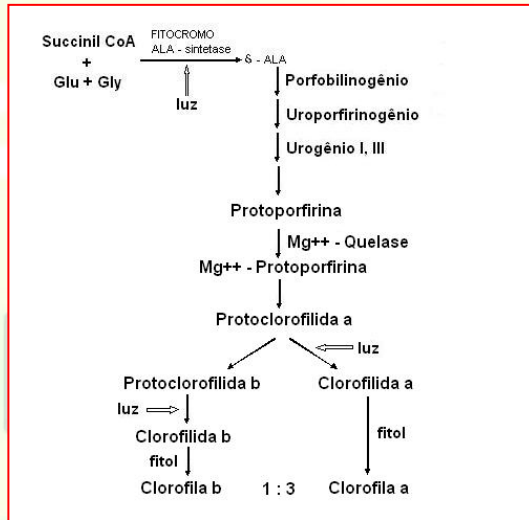
### **Biossíntese dos Pigmentos Fotossintéticos:**

#### **Biossíntese das clorofilas:**

As clorofilas têm como *precursores* o *succinil-CoA*, *ácido glutâmico* e *glicina*, substâncias originárias do metabolismo primário. O início da síntese das clorofilas é ativado pela luz, captada pelo *fitocromo* (encontrado nas sementes), pela ação da *ALA-sintetase*, enzima envolvida na síntese do ácido *δ-amino-levulínico* (*δ-ALA*). As moléculas das clorofilas são formadas por duas porções específicas: a *cromofórica*, responsável pela captura da radiação luminosa, é constituída por um *tetrapirrol de cadeia fechada*, cujo interior apresenta um átomo de *Mg<sup>2+</sup>* preso na forma de um quelato. A presença desse átomo é fundamental para a manutenção da coloração verde das moléculas das clorofilas. Quando as clorofilas perdem esse átomo naturalmente ou por oxidação, o espaço é preenchido por dois átomos de *H<sup>+</sup>*, sendo as moléculas formadas denominadas *feofitina*. A existência de ligações simples e duplas conjugadas permitem a interferência e a captura da energia radiante por parte da estrutura do cromóforo. As clorofilas *a* e *b* são derivadas de um intermediário comum na rota de biossíntese, a *protoclorofilida a*, molécula que já apresenta coloração ligeiramente esverdeada. Após a formação da *protoclorofilida a* e antes da formação das *clorofilidas a* e *b* há, novamente, necessidade de luz para o término da biossíntese. Na última etapa do processo de biossíntese das clorofilas, uma “cauda” denominada *fitol* é esterificada ao tetrapirrol, originando as estruturas das clorofilas *a* e *b*, cuja proporção normal em plantas *heliófilas* é de 3:1, podendo ser alterado (aumenta a clorofila *b* e diminui a clorofila *a*) em plantas *umbrófilas*. O fitol é um álcool apolar (hidrofóbico). Essa estrutura possibilita que as moléculas de clorofila se “premam” às membranas dos tilacóides, uma vez que o tetrapirrol apresenta natureza hidrofílica. A elevada apolaridade da cauda fitol torna as moléculas das clorofilas *a* e *b* predominantemente apolares, embora sejam menos apolares do que as moléculas dos carotenóides. A única diferença entre as moléculas das clorofilas *a* e *b* está no *anel pirrólico* de número dois. Na clorofila *a*, um *grupo metil* (CH<sub>3</sub>) se liga ao anel, enquanto que, na clorofila *b*, a ligação se dá a um *grupo carbonila/aldeído* (CHO).

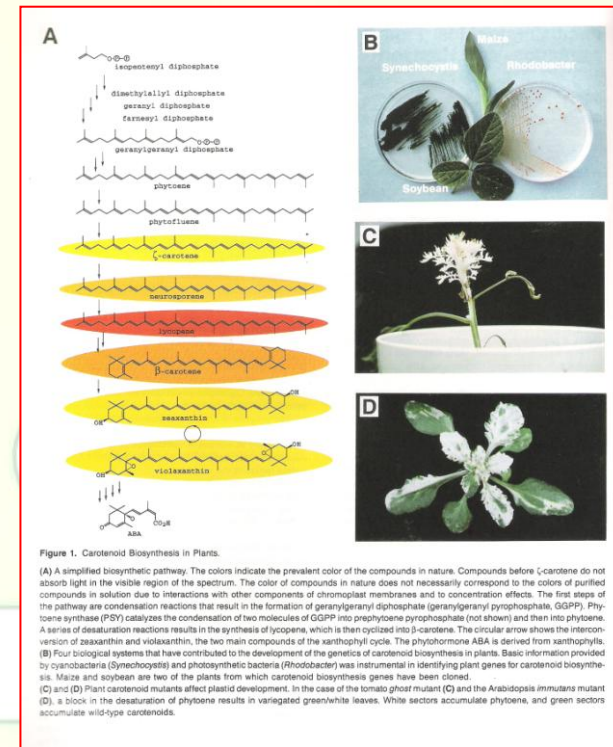


As clorofilas bacterianas também diferem das clorofilas dos vegetais apenas nesse anel. A biossíntese das clorofilas pode ser resumida no esquema a seguir:



### Biossíntese dos Carotenóides:

Os carotenóides são pigmentos solúveis em lipídios (e em solventes orgânicos), de coloração amarela, laranja ou vermelha, encontrados em plantas e cianobactérias. A biossíntese dos carotenóides ocorre inicialmente utilizando os mesmos substratos e intermediários da biossíntese de lipídios e das giberelinas. O *isopentenil difosfato* é o precursor da rota biossintética. A primeira etapa da biossíntese envolve a transformação do *geranil difosfato* em *fitoene*. Uma série de *reações de desaturação* resulta na síntese do *licopeno* (cor vermelha da casca do tomate), que então sofre uma *ciclização*, formando o  $\beta$ -*caroteno* (coloração alaranjada da cenoura; principal fonte de vitamina A (retinol) para os animais). Os compostos anteriores ao  $\zeta$ -*caroteno* ( $\zeta$  = zeta) não absorvem luz na região do visível. As cores desses compostos na natureza não necessariamente correspondem às cores dos mesmos em solução devido às interações com outros componentes das membranas dos cromoplastos e também pelo efeito de concentração.



Os carotenóides contribuem para a absorção da energia radiante, transferindo a energia de excitação às clorofilas *b* e *a*, aumentando a eficiência do processo de captura da energia. Todavia, além dessa função, os carotenóides contribuem de modo fundamental para a proteção do aparelho fotossintético, evitando a fotoxidação das clorofilas, através da extinção rápida do estado excitado das suas moléculas. A ação fotoprotetora depende do *ciclo das xantofilas* que funciona através de *interconversões* entre moléculas de zeaxantina e violaxantina, possibilitando a dissipação do estado de excitação das clorofilas, contribuindo como antioxidantes desses pigmentos e evitando a formação dos radicais livres resultantes da transferência de elétrons das clorofilas para o oxigênio. Sem a contribuição dos carotenóides não seria possível a ocorrência da fotossíntese em presença de oxigênio e de luz. A violaxantina também é uma molécula precursora da síntese do ácido abscísico (ABA), um importante fitormônio. Em folhas verdes, a cor dos carotenóides frequentemente é mascarada pela presença massiva das

clorofilas, mas em regiões temperadas e durante a senescência foliar, os carotenóides tornam-se visíveis quando as clorofilas são destruídas no outono ou com o envelhecimento natural das folhas.

Nem todos os pigmentos encontrados nas plantas participam do processo fotossintético. As antocianinas não contribuem para o processo de transferência de energia durante a fotossíntese. Ao contrário dos pigmentos que participam da fotossíntese, que são lipossolúveis, as antocianinas são hidrossolúveis, sendo armazenadas nos vacúolos. Todavia, as antocianinas, em função de sua localização e devido às dimensões dos vacúolos, que ocupam grande parte da célula, podem atuar na proteção do aparelho fotossintético como filtros da radiação UV, potencialmente nociva aos pigmentos da fotossíntese. Ao contrário das clorofilas e dos carotenóides, as antocianinas têm a sua coloração dependente do pH, variando do azul ao vermelho, embora algumas sejam incolores. A presença das antocianinas em algumas folhas pode mascarar completamente as clorofilas (que por sua vez mascaram os carotenóides), condicionando colorações diferentes do verde nesses e em outros órgãos. O acúmulo de antocianina é estimulado por níveis elevados de luz, por deficiência de certos nutrientes (principalmente N, P e S) e por temperaturas baixas.

Cada pigmento que participa da fotossíntese apresenta coloração diretamente relacionada a sua estrutura química. Em função disso, cada pigmento apresenta regiões de absorção específicas no espectro de radiação que, geralmente, correspondem às suas cores complementares. Os pigmentos carotenóides apresentam comportamento típico, apresentando pico de absorção da radiação nas faixas correspondentes às suas cores complementares (azul-violeta), absorvendo bem faixas de radiação com maior energia. Todavia, as clorofilas, além de absorverem nas faixas correspondentes a sua cor complementar (laranja-vermelho), também absorvem na região do azul-violeta, embora os picos máximos de absorção encontrem-se nas faixas de menor energia do espectro (vermelho e vermelho-longo). A determinação das faixas de absorção características de cada pigmento pode ser obtida com a utilização de espectrofotômetros, equipamentos que utilizam o princípio da decomposição das radiações componentes da luz branca pela sua passagem através de um prisma. Cada faixa de radiação (monocromática) é obtida pela seleção (comprimento de onda) através de um filtro (monocromador). Os espectrofotômetros permitem determinar o espectro de absorção de cada pigmento, através da determinação da absorção relativa (absorvância) do pigmento em cada comprimento de onda ( $\lambda$ ).

Quando se estuda os efeitos da luz de diferentes comprimentos de onda, usando quantidades não saturantes, num processo fisiológico qualquer, como a fotossíntese, por exemplo, obtém-se um “espectro de ação”. O *espectro de ação*, comparado com o *espectro de absorção* do pigmento, ajuda a elucidar a possível participação do mesmo no processo fisiológico.

O funcionamento dos espectrofotômetros é explicado pela *Lei de Lambert-Beer*, permitindo a determinação, de modo quantitativo, da concentração de substâncias que absorvem radiação em solução. A *Lei de Lambert-Beer* é uma relação matemática que forma a base da análise espectrofotométrica e mostra que a absorvância de uma solução é diretamente proporcional à concentração somente até certo limite, apresentando ajustamento logarítmico. Portanto, na faixa de proporcionalidade direta, o valor da absorvância é proporcional à concentração do soluto na solução. A equação abaixo é a representação matemática da Lei de Lambert-Beer:

$$A = -\log(I/I_0) \Rightarrow A = a \cdot b \cdot c, \text{ onde:}$$

**A** = absorvância medida utilizando-se um espectrofotômetro, **I<sub>0</sub>** = intensidade da radiação incidente em determinado comprimento de onda, **I** = intensidade da radiação transmitida pela amostra, **b** = caminho óptico pela amostra (distância que a luz percorreu por ela, geralmente, 1 cm), **a** = constante conhecida como absorvância molar (varia de substância para substância e com o solvente), e **c** = concentração da substância em estudo.

#### **Processo Fotoquímico da Fotossíntese:**

Para leigos observando plantas, principalmente as suas folhas, a conclusão de que elas são completamente verdes é uma possibilidade razoável. Todavia, quando estudamos a morfologia interna dos caules e folhas, verificamos que a presença de pigmentos verdes se restringe a porções específicas, principalmente aos parênquimas clorofilianos, sendo a ocorrência de pigmentos restrita aos cloroplastos. Essa organela, a “olho nu” também parece totalmente clorofilada. Entretanto, quando ela é estudada com maior precisão, verifica-se que os pigmentos se restringem apenas às membranas dos tilacóides. Da mesma forma, nem mesmo as membranas dos tilacóides apresentam-se completamente coloridas, sendo os pigmentos restritos aos *fotossistemas (complexos protéicos pigmentados)*.



Três experimentos foram fundamentais para a descoberta dos *fotossistemas*. No final da década de 50 e início da década de 60, vários estudos relacionados à fotossíntese foram conduzidos. Em um desses experimentos, foi medida a produção quântica (recíproca do número de fótons necessários para a redução de uma molécula de CO<sub>2</sub> a açúcar) em resposta à variação no comprimento de onda. Os resultados mostraram uma queda drástica na produção quântica quando o material era iluminado com radiação na faixa do vermelho-longo (acima de 680 nm). Tal fato ficou conhecido na literatura como “*red drop*” (queda no vermelho). Posteriormente, outro experimento conduzido por *Emerson e colaboradores* encontrou um resultado interessante. Eles verificaram que quando plantas eram iluminadas apenas com lâmpadas vermelhas ou com lâmpadas vermelho-longo, a taxa de fotossíntese relativa era menor do que quando elas eram iluminadas com as duas lâmpadas ao mesmo tempo, sendo, o valor encontrado superior ao somatório da produção quântica de cada uma das lâmpadas isoladamente. Tal fato ficou conhecido na literatura como “*efeito intensificador de Emerson*”. Esse experimento frustrou inicialmente os seus autores que não conseguiram explicar os resultados, mas eles forneceram as evidências essenciais em favor do conceito de que a fotossíntese é conduzida por dois sistemas fotoquímicos que diferem levemente em seus ótimos de comprimentos de onda. Todavia, em 1961, outro estudo explicou os resultados encontrados por Emerson. *Duysens e colaboradores* demonstraram que quando amostras de algas vermelhas eram iluminadas com radiação de comprimento de onda longo, os citocromos tornavam-se intensamente oxidados. Se uma radiação de comprimento de onda curto era ligada ao mesmo tempo, os efeitos de oxidação eram parcialmente revertidos (redução parcial). O desligamento dessa lâmpada fazia com que a oxidação alcançasse novamente o seu nível máximo. O estado de redução total dos citocromos somente era obtido com o desligamento da lâmpada vermelho-longo. Esse efeito antagônico já havia sido sugerido por *Hill e Bendall*, em 1960, quando eles propuseram que o mecanismo fotossintético envolvia dois eventos: um envolvendo a oxidação de citocromos e outro relacionado à redução desses transportadores de elétrons. Esses estudos levaram à formulação do esquema em “*Z*”, “*Zig-Zag*” ou “*Reação de Hill*”, no qual cada um dos componentes da Cadeia de Transporte de Elétrons da fotossíntese é posicionado em um eixo, de acordo com o seu potencial de oxido-redução (*Em*).

Atualmente, a existência de dois complexos protéicos pigmentados (*fotossistemas*) é amplamente aceita, sendo que um dos fotossistemas absorve,

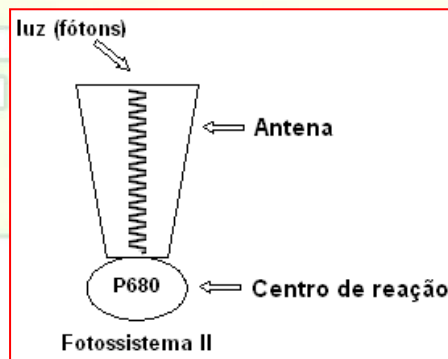
preferencialmente, luz na faixa de comprimento de onda mais curto (680 nm = fotossistema II) e o outro absorve, preferencialmente, radiação de comprimento de onda na região do vermelho-longo (700 nm = fotossistema I), daí a explicação para o *Efeito Intensificador de Emerson* e para o “*Red Drop*”. O *fotossistema II* apresenta um forte oxidante (P680), capaz de oxidar moléculas de água, enquanto o *fotossistema I* produz um forte redutor (P700<sup>+</sup>), capaz de reduzir NADP<sup>+</sup> a NADPH.

Os fotossistemas são constituídos por proteínas e pelo *complexo antena*, estrutura onde se organizam os pigmentos, além do *centro de reação*, formado por uma molécula de *clorofila a “especial”* (P<sub>680</sub> no fotossistema II ou P<sub>700</sub> no fotossistema I). Essas clorofilas especiais são os únicos pigmentos que efetivamente participam da cadeia de transporte de elétrons. As antenas dos fotossistemas podem ser explicadas por analogia às antenas parabólicas das televisões, que captam e afunilam o sinal até os receptores. Para que possa ser transformado em imagem de qualidade na televisão, o sinal deve chegar até a periferia da antena em uma forma conhecida (decodificada) e com intensidade adequada. Caso o sinal tenha características desconhecidas ou, então, seja fraco, o resultado será a ausência de imagens ou uma imagem muito ruim.

A estrutura dos “*complexos antenas*” nos fotossistemas apresenta moléculas de carotenóides na periferia, uma vez que esses pigmentos absorvem preferencialmente as radiações de comprimentos de onda mais curtos (de maior energia), na faixa do azul-violeta, reduzindo, assim, os riscos dos danos causados pelo excesso de energia. A energia absorvida pelos carotenóides é transferida às clorofilas, num processo de transferência de energia puramente físico, na forma de *ressonância* (Fenton). Nesse tipo de transferência de energia, apenas o fato de um pigmento apresentar afinidade pelo outro possibilita que a excitação seja transferida entre eles. Uma analogia ao funcionamento desse mecanismo de transferência física de excitação pode ser feita com a utilização de dois violões na mesma afinação. Ao tocarmos as cordas de um deles e se os aproximamos, por ressonância, as cordas do outro violão também vibram, como se tivessem sido tocadas. Isso acontece de modo semelhante com os pigmentos nas antenas dos fotossistemas.

Uma vez que os fótons de radiação de determinadas energias são captados pelos pigmentos localizados na periferia das antenas (carotenóides), esses a transferem, por ressonância, para os pigmentos mais próximos (outras moléculas de carotenóides e de clorofilas a e b). Caso esse fóton apresente energia adequada, por ressonância, molécula a molécula, os pigmentos vão se tornando excitados.

Essa energia de excitação pode chegar até os centros de reação dos fotossistemas, tornando as moléculas de clorofila *a* especiais inicialmente *excitadas* e, posteriormente, *oxidadas*, fazendo com que a cadeia de transporte de elétrons entre em funcionamento. Caso a energia do fóton seja baixa, a excitação é perdida durante a transferência de energia entre os pigmentos da antena, não chegando até o centro de reação, o que não ativa o fluxo de elétrons na CTE. Em contraste, fótons com excesso de energia podem causar fotoinibição e, até mesmo, danos ao aparelho fotossintético (*foto-oxidação*) em decorrência da degradação de proteínas e lipídios das membranas e de danos aos próprios pigmentos das antenas.



O processo fotoquímico da fotossíntese envolve a participação da luz, pigmentos (nos fotossistemas) e outros dois complexos protéicos não pigmentados, o citocromo  $b_6/f$  e o  $CF_0:CF_1$ -ATP sintase:

#### **Fotossistema II (PSII):**

O fotossistema II (PSII) foi identificado posteriormente ao fotossistema I, o que explica sua denominação. O PSII apresenta um complexo antena (“*sistema coletor de luz*”) constituído por aproximadamente 250 moléculas de clorofila *a*/clorofila *b*, na proporção de 1/1. Além desses pigmentos, um número menor de moléculas de carotenóides complementa a estrutura da antena do PSII. O centro de reação desse fotossistema é formado por uma molécula de clorofila *a* especial, que apresenta pico máximo de absorção de radiação luminosa em 680 nm (vermelho), sendo denominada  $P_{680}$ . Associado ao PSII ocorre o Complexo de Evolução do

Oxigênio (CEO), estrutura responsável pela fotoxidação (fotólise) das moléculas de água, liberando 4 hidrogênios, 4 elétrons e uma molécula de oxigênio, conforme a equação a seguir:



O funcionamento do CEO é de fundamental importância para o funcionamento da cadeia de transporte de elétrons (CTE), resultando na formação de NADPH (poder redutor) e ATP, coenzima essencial para a síntese de açúcares (no processo bioquímico), assim como a liberação do oxigênio, possibilitando a existência de vida em nosso planeta.

#### **Fotossistema I (PSI):**

O fotossistema I (PSI) foi identificado anteriormente ao PSII. O PSI também apresenta um complexo antena ou “*sistema coletor de luz*” constituído por aproximadamente 250 moléculas de clorofila *a*/clorofila *b*, na proporção de 4/1. Além desses pigmentos, um número menor de moléculas de carotenóides também complementa a estrutura da antena do PSI. O centro de reação desse fotossistema é formado por uma molécula de clorofila *a* especial, que apresenta pico máximo de absorção de radiação luminosa em 700 nm (vermelho-longo), sendo denominada  $P_{700}$ . Associado ao PSI encontra-se a proteína *ferredoxina NADP<sup>+</sup>-redutase*, responsável pela redução da  $\text{NADP}^+$  a NADPH, utilizando os elétrons provenientes da água e transportados através da CTE. A NADPH é a principal substância responsável pela redução do  $\text{CO}_2$  atmosférico a açúcar (gliceraldeído-3-fosfato = 3-PGAlD), durante a fase enzimática da fotossíntese.

Em plantas mantidas em ambientes ensolarados, a proporção entre os PSII e PSI é de aproximadamente **1,5:1**. Essa proporção é reduzida em plantas mantidas sob sombreamento, tanto pelo aumento da quantidade de PSI, quanto pela redução na quantidade de PSII. Plantas de sombra também apresentam aumentos na quantidade de *C/b* e redução na quantidade de *C/a*.

#### **Citocromo $b_6/f$ :**

A conexão entre os dois fotossistemas é realizada com a participação de um terceiro complexo protéico, o citocromo  $b_6/f$ . Esse complexo protéico não é pigmentado, sendo formado basicamente por essas duas proteínas transportadoras de elétrons, o citocromo  $b_6$  e o citocromo  $f$ . Associado a esse complexo existe o



chamado *pool de plastoquinonas*, que permite o funcionamento da *bomba lançadeira de prótons*, sistema que aumenta o *gradiente de potencial eletroquímico* entre o *lúmen do tilacóide* e o *estroma*, aumentando a produção de ATP através da *CF<sub>o</sub>:CF<sub>1</sub>-ATP sintase*. Além disso, é através do citocromo *b<sub>6/ff</sub>* que retornam os elétrons da *fotofosforilação cíclica* da fotossíntese, com veremos mais a frente.

A distribuição dos complexos protéicos nas membranas dos tilacóides é bastante coerente, obedecendo a uma organização lógica que, provavelmente está relacionada aos compartimentos nos quais essas estruturas liberam os seus produtos. Assim, o PSII e o citocromo *b<sub>6/ff</sub>* ocorrem tanto em regiões prensadas quanto nas regiões não prensadas dos tilacóides, ao passo que o PSI (NADPH ⇨ estroma) e o CF<sub>o</sub>:CF<sub>1</sub>-ATP sintase (ATP ⇨ estroma) ocorrem exclusivamente em regiões não prensadas dos tilacóides.

### Esquema em “Z” (Zigue-Zague) e Cadeia de Transporte de Elétrons:

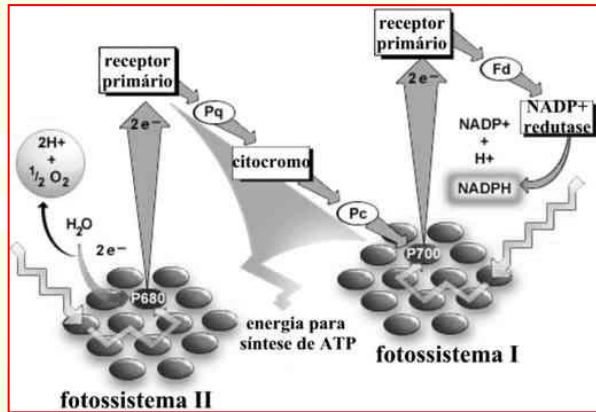
Estudos realizados por Hill e Bendall, desde o final da década de 30, resultaram no estabelecimento de um sistema conhecido como “esquema em Z” ou “esquema de Hill e Bendal” ou, ainda, “Reação de Hill”, que explica o funcionamento da CTE de elétrons da fotossíntese e o processo denominado “*fotofosforilação oxidativa*” considerando o potencial redox de cada componente da CTE. Pelo esquema, cada composto da CTE é posicionado, em um plano cartesiano, considerando os valores médios (metade oxidado e metade reduzido) de seus potenciais de oxido-redução (*Em*), expressos em unidade de voltagem (V ou mV). Quanto menor o valor do *Em*, maior é o *potencial de redução* (ou de doação de elétrons) do composto em questão.

Na *fotofosforilação oxidativa*, a síntese de ATP está acoplada ao funcionamento da CTE, que permite a formação do gradiente de potencial eletroquímico. Esse processo envolve, inicialmente, a excitação dos pigmentos nas antenas dos fotossistemas. Essa excitação é transferida por *ressonância* de pigmento a pigmento, até o centro de reação, o que ativa o funcionamento da CTE. No PSII, a excitação chega até as moléculas do P<sub>680</sub>. Essa molécula torna-se inicialmente excitada, resultando no distanciamento de seus elétrons do núcleo, o que faz com que elas tenham o seu potencial de oxido-redução (*Em*) alterado (ficando negativo), provocando a sua *oxidação* (perda de elétrons) e, conseqüentemente, a transferência de seus elétrons para moléculas de *feofitina* (moléculas de “clorofilas” nas quais os átomos de **Mg<sup>++</sup>** do tetrapirrol são

substituídos por **H<sup>+</sup>**). Da feofitina, os elétrons são transferidos para as *quinonas* (**Q<sub>A</sub>** e **Q<sub>B</sub>**), que por sua vez os transferem ao *citocromo b<sub>6/ff</sub>*. Esse citocromo é a proteína transportadora de elétrons que faz a conexão entre os fotossistemas II e I. Através da reação de foto-oxidação da água (fotólise), os elétrons retirados das moléculas de clorofilas *a* especiais (P<sub>680</sub>) são repostos. Portanto, no FSII, as moléculas da P<sub>680</sub> são as únicas que realmente sofrem *reações redox*, daí a denominação *moléculas de clorofila a especiais*. As outras moléculas de clorofila *a* e os demais pigmentos, quando se oxidam, são destruídos, não sendo possível a sua regeneração.

No Fotossistema I ocorre a mesma excitação dos pigmentos da antena (por *ressonância*) até o centro de reação, que, todavia, apresenta pico máximo de absorção de energia radiante em 700 nm (P<sub>700</sub>). A P<sub>700</sub>, quando excitada, tem o seu potencial de oxido-redução (*Em*) também alterado (fica negativo), provocando a perda de elétrons (*oxidação*) e a sua transferência para diversas moléculas intermediárias e componentes da CTE. As moléculas de *ferredoxina NADP<sup>+</sup>-redutase*, enzima que permite a redução da **NADP<sup>+</sup>** a **NADPH**, são os últimos componentes da cadeia a receber elétrons. Os elétrons removidos das moléculas da P<sub>700</sub> são repostos pelos elétrons provenientes do fotossistema II, através da *plastocianina* (PC). Na verdade, em última análise, os elétrons que são transportados através da CTE são **todos** provenientes da **água**, sendo esta molécula considerada **agente redutora** da CTE da fotossíntese. Em contraste, a **NADP<sup>+</sup>** é o **agente oxidante** da CTE da fotossíntese.

O funcionamento da CTE e a fotoxidação da água resultam na produção de ATP (fosforilação oxidativa) e NADPH, duas moléculas essenciais ao processo enzimático da fotossíntese. A fosforilação oxidativa pode ser *cíclica* ou *acíclica*. No primeiro caso, o PSI pode trabalhar independentemente do PSII. Neste processo, os elétrons energizados da P<sub>700</sub>, ao invés de serem transportados para a NADP<sup>+</sup>, voltam para o citocromo *b<sub>6/ff</sub>*, reforçando o gradiente de potencial eletroquímico, o que pode resultar no aumento da produção de ATP. Entretanto, a produção de NADPH não ocorre. Essa situação pode acontecer em condições de deficiência interna de CO<sub>2</sub>, devido ao fechamento estomático em resposta aos estresses hídricos. Nessa condição, podem faltar moléculas de NADP<sup>+</sup> (forma oxidada), sendo os elétrons da CTE doados ao O<sub>2</sub>, o que resulta na formação dos *radicais livres*. Em contraste, quando os elétrons fluem diretamente da água, através dos fotossistemas II, citocromo *b<sub>6/ff</sub>* e fotossistema I até a NADP<sup>+</sup> produzindo a NADPH, o fluxo é unidirecional, sendo denominado *fluxo acíclico*, produzindo tanto o poder redutor (NADPH) quanto ATP.



### **$CF_0:CF_1$ -ATP-sintetase :**

O processo de fosforilação oxidativa ocorre envolvendo o *acoplamento quimiosmótico* (Teoria Quimiosmótica de Mitchell), sendo o fluxo de elétrons através da CTE responsável pela formação do gradiente de potencial eletroquímico entre o lúmen do tilacóide e o estroma do cloroplasto. Como na respiração, a dissipação desse gradiente ocorre através de um complexo protéico denominado  *$CF_0:CF_1$ -ATP-sintetase*, inserido nas membranas dos tilacóides (pela porção  $CF_0$ ), com a porção  $CF_1$  imersa no estroma. A estrutura da  *$CF_0:CF_1$ -ATP-sintetase* apresenta um canal através do qual os prótons podem fluir, a favor do gradiente, de volta para o estroma do cloroplasto. A energia potencial da dissipação do gradiente é utilizada como força motriz para a síntese de ATP a partir de ADP e  $P_i$ . Para cada 3  $H^+$  que retornam, 1 molécula de ATP é produzida.

Os mecanismos envolvidos na formação do gradiente de potencial eletroquímico envolvem o funcionamento da CTE e, em última análise, estão relacionados à qualidade e à intensidade de radiação luminosa que chega até as antenas dos fotossistemas. A qualidade da radiação fornecida pode ter efeito direto na eficiência de funcionamento da CTE. As radiações *azul-violeta* e *laranja-vermelho* são as mais eficientes para a promoção da fotossíntese. Todavia, a radiação vermelha apresenta maior eficiência que a azul, uma vez que a excitação provocada por essa faixa de radiação faz com que a excitação dos elétrons nos pigmentos da periferia da antena alcance níveis que permitem a transferência imediata da energia de excitação (por *ressonância*) ao pigmento que se encontra mais próximo,

alcançando o centro de reação. Em contraste, para a radiação na faixa do azul, é necessária uma perda inicial da energia na forma de *calor*, antes que seja possível a transferência de excitação por ressonância. Parte da energia de cada fóton, independente da sua energia, cor, faixa do espectro ou comprimento de onda, sempre é dissipada na forma de calor. Uma outra parte dessa energia é dissipada na forma de *fluorescência*, emitida na região do vermelho pelas moléculas de clorofilas. Esse processo de *fluorescência* consiste na *emissão de radiação luminosa em comprimento de onda maior que o recebido*. Atualmente, a medição da fluorescência em tecidos vegetais tem sido utilizada na detecção da ocorrência de estresses de diferentes origens. A fluorescência é uma medida de *eficiência fotoquímica*, ou seja, da eficiência como que os *fótons absorvidos pelas antenas são convertidos em poder redutor* (NADPH). A determinação da fluorescência é obtida com a utilização de equipamentos denominados *fluorímetros*, sendo que, normalmente, a eficiência fotoquímica é reduzida quando as plantas são submetidas a condições de estresses.

### **Fase Bioquímica:**

A principal função da fase fotoquímica da fotossíntese é transformar energia radiante (luz) em energia química, ATP e  $NADPH_2$ . Essas duas moléculas são utilizadas para a transformação do  $CO_2$  atmosférico em açúcares, principais combustíveis da respiração.

O processo envolvido nessa transformação foi descoberto por um grupo de pesquisadores liderados por Melvin Calvin, que desde 1950 desenvolveram estudos relacionados à fotossíntese. Os estudos conduzidos por *Melvin Calvin, Andrew Alm Benson* e *James Alan Bassham* resultaram na identificação do *Ciclo de Redução do Carbono Fotossintético, Ciclo de Calvin* ou *Ciclo  $C_3$* . A elucidação desse ciclo propiciou a Melvin Calvin o Prêmio Nobel de Química no ano de 1961.

### **Ciclo de Calvin = Ciclo $C_3$ :**

O Ciclo  $C_3$  é universal nas plantas, uma vez que todas elas são, em última análise,  $C_3$ . Esse é o único dos Ciclos fotossintéticos que permite a transformação do  $CO_2$  em açúcares. Os demais Ciclos (bombeamento de  $CO_2$ /carbonato,  $C_4$  ou CAM) são adaptações a condições ambientais especiais, sendo os dois últimos relacionados à redução progressiva na disponibilidade de água e ao aumento da temperatura ambiente.



Para ser transformado em açúcares, o CO<sub>2</sub> precisa difundir do lado externo da folha, através dos estômatos e câmaras subestomáticas, atravessando diversas membranas (plasmática e as duas membranas do envelope do cloroplasto) até chegar ao estroma, local onde as enzimas e os intermediários do Ciclo possibilitam a conversão de CO<sub>2</sub> em açúcares simples. Calvin e seus colaboradores trabalharam com uma espécie de alga do gênero *Chlorella*. As algas eram mantidas em recipientes transparentes contendo água e iluminadas com lâmpadas incandescentes. Então, CO<sub>2</sub> marcado com carbono 14 (<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>) era injetado no interior do recipiente. Após algum tempo a torneira do recipiente contendo as algas era aberta, sendo a solução coletada em etanol fervente. O material contido no etanol era, então, avaliado por cromatografia em papel, através de autoradiografia, utilizando padrões conhecidos para a comparação. As principais substâncias encontradas nessas exposições ao <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> eram *ácidos orgânicos*. Quando os tempos de exposição ao <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> e de abertura da torneira se tornaram bastante curtos (± 5 segundos), uma mancha principal e mais concentrada sempre predominava. Pela comparação com os padrões conhecidos essa mancha foi identificada como correspondente ao *ácido fosfoglicérico* (APG), um composto que apresenta *três carbonos* em sua molécula. Esse ácido é a primeira substância estável do Ciclo de Redução do Carbono na fotossíntese e, por apresentar três carbonos, o Ciclo também passou a ser denominado C<sub>3</sub>. Estudos posteriores mostraram que no Ciclo de Calvin, o APG sempre é o primeiro produto estável formado, independente da espécie de planta analisada.

Após a identificação do APG, outra questão elucidada por Calvin e colaboradores foi a identidade da substância que, combinada com o CO<sub>2</sub>, originava o APG. Por uma questão lógica, inicialmente buscou-se uma substância presente nos cloroplastos contendo *dois carbonos* na sua molécula. Todavia, tal substância não foi encontrada. Em contraste, uma substância solúvel no estroma e contendo *cinco carbonos* sempre estava presente, a *Ribulose 1,5-bisfosfato* (RuBP), o que possibilitou a compreensão das reações envolvidas na produção do APG. A explicação para esse processo pressupõe que a condensação do CO<sub>2</sub> à RuBP resulta na produção de uma *molécula intermediária e instável* contendo *seis carbonos* (*2-carboxi-3-cetoarabinitol-1,5-bisfosfato*). Imediatamente após a formação dessa molécula, ela é quebrada originando *duas* moléculas de APG, sendo apenas uma delas radioativa (quando se utiliza <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>). Esses fatos permitiram compreender a *primeira etapa* do Ciclo de Calvin, a *carboxilação* da RuBP pelo CO<sub>2</sub>. A catalise enzimática dessa reação foi atribuída inicialmente à enzima *Ribulose 1,5-bisfosfato*

*carboxilase* (RuBPCase), uma vez que inicialmente acreditava-se que a RuBP podia se combinar apenas com CO<sub>2</sub>. Posteriormente, descobriu-se que essa enzima também pode catalisar a oxigenação da RuBP, na primeira reação do *Ciclo Fotorrespiratório* (C2). Em decorrência da atuação da enzima *RuBPCase* tanto de *carboxilase* quanto de *oxigenase*, ela passou a ser denominada *Ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase*, sendo identificada pela sigla *RUBISCO*. A *RUBISCO* é a proteína mais abundante das folhas, alcançando percentual de até 40% do total. Essa enzima, apesar de ser uma carboxilase/oxigenase apresenta maior afinidade por carbono, sendo a relação 3/1 de carboxilação/oxigenação observada em condições normais de atmosfera (0,037% de CO<sub>2</sub> e 21% de O<sub>2</sub>). A RUBISCO é uma enzima solúvel no estroma dos cloroplastos. A sua ativação é estimulada por CO<sub>2</sub>, Mg<sup>2+</sup> e por pH básico, sendo esse último fator resultante da fase fotoquímica associado à formação do gradiente de potencial eletroquímico entre o estroma e o lúmen do tilacóide.

Após a carboxilação, tem início a etapa de *redução* do Ciclo de Calvin. Nessa etapa, as moléculas de APG formadas durante a carboxilação são inicialmente *fosforiladas*, utilizando o ATP produzido na *fase fotoquímica* e, posteriormente *reduzidas*, utilizando-se a *NADPH<sub>2</sub>*, também formada na fase fotoquímica. O produto final dessa etapa é uma triose-fosfatada, o *gliceraldeído 3-fosfato* (3PGAlD). O carbono presente no CO<sub>2</sub> é a forma mais oxidada que se conhece na natureza (+4). O carbono do APG é um pouco reduzido (+3), enquanto o carbono do 3PGAlD é mais reduzido ainda (+1). A transformação de um *ácido* (APG) em um *aldeído* (3PGAlD) é um *processo de redução* (os aldeídos sempre são mais reduzidos que os ácidos). O 3PGAlD é considerado o *primeiro açúcar* formado em *qualquer planta* (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> ou CAM), uma vez que o Ciclo de Calvin é o único Ciclo responsável pela transformação do CO<sub>2</sub> em açúcares independente do tipo de planta. Os açúcares sempre são *aldeídos* ou *cetonas*, sendo que o 3PGAlD pode originar, por isomerização, uma cetona (*dihidroxi acetona fosfato* = DHAP).

A última etapa do Ciclo de Calvin é a *regeneração* da RuBP. Esta etapa é fundamental para o funcionamento do Ciclo. De cada seis moléculas de CO<sub>2</sub> incorporadas à RuBP, apenas uma pequena fração (1/6) origina carboidratos mais complexos (sacarose, glicose, frutose, amido, celulose, etc.). A maior parte dessa fração de carbonos fixados (1/6) é transformada em sacarose, principal forma de açúcar transportado através do floema, e/ou em amido, principal forma de carboidrato armazenada nas plantas. O amido produzido na fotossíntese é armazenado no próprio estroma dos cloroplastos (denominado amido primário),

local onde é sintetizado. Em contraste, em função de sua natureza osmótica, a sacarose não pode ser sintetizada e nem armazenada no cloroplasto, pois causaria a sua ruptura em decorrência da absorção de água. Essa substância é sintetizada no citosol. A maioria dos carbonos que entram no Ciclo de Calvim (5/6), entretanto, são utilizados para a regeneração da RuBP. Nessa etapa, vários intermediários com diferentes números de carbono são produzidos (xilulose (5C), ribulose (5C), sedoheptulose (7C), etc), tendo como produto final a RuBP. Partes dos ATPs produzidos na fase fotoquímica também são consumidas no processo de regeneração. Embora a glicose seja normalmente representada como o produto final da fotossíntese, na realidade pouca glicose livre é produzida nas células fotossintetizantes, sendo a sacarose o principal carboidrato sintetizado.

Inicialmente, o Ciclo  $C_3$  foi considerado universal em plantas. Todavia, estudos posteriores mostraram que esse ciclo apresenta limitações diretamente relacionadas às características de funcionamento da *RUBISCO*, que também atua como oxigenase. Trabalhos desenvolvidos por *Otto Heinrich Warburg* demonstraram que quando plantas  $C_3$  são cultivadas em atmosfera enriquecida com  $O_2$  (concentração superior aos 21% normais da atmosfera), a taxa fotossintética é reduzida, observando-se perda de parte dos carbonos incorporados em presença de luz (fenômeno conhecido como *Efeito Warburg*), o que é uma situação contrária à finalidade da fotossíntese. Esse fato é explicado pela atuação da *RUBISCO* também como oxigenase, passando esse Ciclo a ser denominado *Ciclo fotorrespiratório*.

A *fotorrespiração* resulta na perda líquida de aproximadamente 25% dos carbonos incorporados ( $CO_2$ ) em presença de luz, o que ocorre através dos estômatos. A explicação para esse processo tem início com a reação de oxigenação de moléculas de RuBP, catalisada pela *RUBISCO*. Os produtos dessa reação são uma molécula de APG (3C) e uma molécula de ácido fosfoglicólico (*APGlicólico*), apresentando esta última dois carbonos em sua estrutura. Em função do número de carbonos na molécula do *APGlicólico*, esse Ciclo também é denominado *Ciclo  $C_2$* . A *fotorrespiração* ocorre com a participação de 3 organelas: os *cloroplastos*, os *peroxissomos* e as *mitocôndrias*. Após a formação do *APGlicólico*, nos *cloroplastos*, ele sofre transformações, resultando na produção do *glicolato* que, por sua vez, é transportado para os *peroxissomos*. Nessa organela, o *glicolato* é transformado em *glioxilato*, em reação que resulta na produção de  $H_2O_2$ , substância oxidante e tóxica para o metabolismo. Todavia, o  $H_2O_2$  é rapidamente quebrado a  $O_2$  e  $H_2O$  pela ação da *catalase*, enzima presente em grande quantidade nos *peroxissomos*. O *glioxilato*

formado é transformado em *glicina*, em uma reação de *transaminação*. Esse aminoácido é, então, transportado para o interior das mitocôndrias. Nessa organela, em uma reação que envolve a formação de *serina*, é liberada uma molécula de  $CO_2$ , correspondente à molécula perdida para a atmosfera através dos estômatos. A *serina* retorna aos *peroxissomos* originando, após duas reações, o *glicerato*, que por sua vez é transportado para o interior dos *cloroplastos*. Esse *glicerato* é fosforilado, originando o APG, fechando o Ciclo. Como o APG apresenta 3C e o *APGlicólico* possui apenas 2C e, ainda, como uma molécula de  $CO_2$  é perdida para a atmosfera, para que a estequiometria fique correta, são necessárias 2 moléculas de *APGlicólico* para que o *Ciclo Fotorrespiratório* tenha início. Portanto, entram no *Ciclo Fotorrespiratório 4C* (duas moléculas de *APGlicólico*), perde-se 1C ( $CO_2$ ) e retornam 3C (APG), o que resulta numa perda total de aproximadamente 25% dos carbonos absorvidos.

Como a *fotorrespiração* tem a sua origem bioquímica associada à atuação da *RUBISCO* como **oxigenase**, uma análise superficial pode sugerir que esse comportamento é resultante da *não evolução* paralela dessa enzima em resposta às alterações na composição gasosa da atmosfera terrestre atual, especialmente ao  $CO_2$  e ao  $O_2$ , que modificaram bastante em comparação à atmosférica primitiva. A atmosfera primitiva continha muito mais  $CO_2$  e muito menos  $O_2$  que a atual (0,037% de  $CO_2$  e 21% de  $O_2$ ), o que provavelmente não trazia problemas para a fotossíntese dessas plantas, uma vez que a *RUBISCO* atuava quase que exclusivamente como carboxilase. Todavia, esse comportamento e a existência de atividade de oxigenase na *RUBISCO* podem ter algumas explicações ou finalidades, embora elas não sejam totalmente comprovadas. Quando as plantas estão submetidas a condições de estresse hídrico, o primeiro fenômeno observado é o fechamento estomático. Como consequência, a concentração interna de  $CO_2$  (concentração no mesófilo) nos sítios de carboxilação da *RUBISCO* cai bastante. Em decorrência disso, começam a sobrar moléculas de ATP e de  $NADPH_2$  e a faltar moléculas de  $NADP^+$  e  $ADP+Pi$ , uma vez que não há  $CO_2$  suficiente para ser reduzido. Nessa condição, os elétrons, que fluem através da CTE da fotossíntese, que continua a ser estimulada pela radiação luminosa, geralmente elevada em condições de estresse hídrico, passam a ser doados a outros agentes oxidados, como ao  $O_2$ , podendo resultar na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). Essas EROs são radicais livres que degradam a estrutura dos *cloroplastos*, podendo causar danos irreversíveis ao aparelho fotossintético. A existência do *Ciclo Fotorrespiratório* seria um mecanismo de proteção contra esses danos, uma vez que ele permite a recirculação de carbono



(CO<sub>2</sub>) internamente nas folhas, reduzindo os danos causados pelo excesso de radiação.

As plantas C<sub>3</sub> apresentam o fenômeno de fotorrespiração mesmo em atmosfera normal e com boa disponibilidade de água. Embora uma análise mais otimista considere esse processo um mecanismo capaz de recuperar 75% dos carbonos que entram no Ciclo, evitando a perda total, os 25% dos carbonos perdidos (que em condições normais não impedem o desenvolvimento completo da planta) podem ser minimizados com o enriquecimento da atmosfera com CO<sub>2</sub> (adubação carbônica), mostrando que a fotorrespiração reduz a produtividade das plantas C<sub>3</sub>. As plantas C<sub>3</sub>, em decorrência desse “problema”, são tipicamente de ambientes com temperaturas amenas (ótimo 25°C) e com disponibilidade elevada de água, tendo o seu rendimento bastante reduzido em condições adversas. Isso ocorre, exatamente, em decorrência do aumento da fotorrespiração, devido à solubilidade do CO<sub>2</sub> ser mais reduzida do que a do O<sub>2</sub> com o aumento da temperatura. Consequentemente, a RUBISCO aumenta a sua atuação como oxigenase.

O aquecimento global e o aumento do efeito estufa são assuntos relacionados ao *Protocolo de Kyoto* (proposta de redução na emissão de carbono na atmosfera), ao “Mecanismo de Desenvolvimento Limpo”, assim como aos “Programas de Créditos de Carbono” ou “Seqüestro de Carbono”. O aquecimento global está diretamente associado ao aumento da emissão de CO<sub>2</sub> na atmosfera. A princípio, como os aumentos na temperatura ainda não são muito intensos, sob o ponto de vista exclusivo da fotossíntese, as plantas C<sub>3</sub> poderiam se beneficiar desse aumento, uma vez que a fotorrespiração seria reduzida em resposta ao aumento na disponibilidade de CO<sub>2</sub>.

O *Programa de Crédito de Carbono* é uma das possibilidades do *Mecanismo de Desenvolvimento Limpo*. Os países que poluem muito podem investir em países que poluem menos em programas que visam à redução na emissão de CO<sub>2</sub> para a atmosfera ou que incorporem o carbono. O Brasil pode lucrar com isso, uma vez que as florestas tropicais (as árvores são C<sub>3</sub>) são as que potencialmente mais incorporam CO<sub>2</sub>, reduzindo a sua disponibilidade na atmosfera. Ainda, como o carbono é apenas “seqüestrado”, as queimadas que, em contraste, liberam carbono para a atmosfera, colocam o Brasil em evidência como um dos principais poluidores, contribuindo para o aumento do efeito estufa.

Como exemplos de plantas C<sub>3</sub>, podem ser incluídos diversas espécies, dentre as quais o feijão, a soja, o algodão, quase 100% das espécies arbóreas e as

gramíneas típicas de clima frio, como o trigo e o arroz, por exemplo. Estudos realizados em ambientes controlados (estufas) mostram que o enriquecimento da atmosfera com CO<sub>2</sub> (até a concentração de 2%) aumenta a produtividade dessas plantas em mais de 20%, demonstrando ser a fotorrespiração economicamente prejudicial. Esse aumento no rendimento resulta exatamente da atuação da RUBISCO quase que exclusivamente como carboxilase, diminuindo as proporções de redução na produtividade decorrentes de sua atuação como oxigenase, evitando ou minimizando a fotorrespiração.

Inicialmente, o único mecanismo fotossintético conhecidos em plantas era o C<sub>3</sub>. Todavia, estudos subsequentes demonstraram que as plantas apresentam mecanismos complementares ao C<sub>3</sub>, sendo essas adaptações fisiológicas capazes de eliminar e/ou minimizar as desvantagens provocadas pela fotorrespiração, otimizando a fotossíntese. Atualmente, três mecanismos que limitam a fotorrespiração são conhecidos.

#### **a) Bombeamento Ativo de CO<sub>2</sub> e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>:**

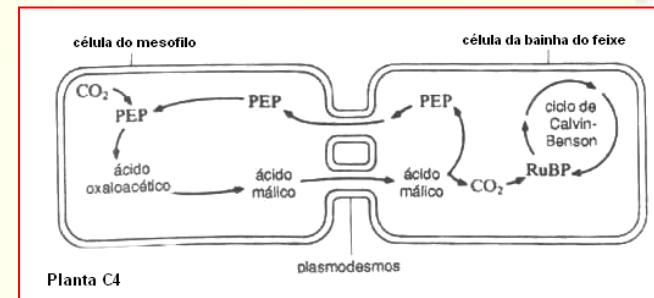
Organismos marinhos (algas e cianobactérias) e plantas subaquáticas (*Elodea canadensis*, p.ex.) têm a capacidade de transportar para o interior de suas células o CO<sub>2</sub> e o HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> dissolvidos na água, o que ocorre através de bombeamento ativo, com gasto de ATP produzido na fase fotoquímica da fotossíntese. A ação dessas bombas somente é estimulada em atmosfera com concentração reduzida de CO<sub>2</sub>. O HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> acumulado é convertido em CO<sub>2</sub> pela ação da enzima *anidrase carbônica* (AC), aumentando a concentração interna de CO<sub>2</sub>, que pode atingir até 50 mM. Essa concentração elevada de CO<sub>2</sub> faz com que a RUBISCO atue quase que exclusivamente como carboxilase, praticamente eliminando a fotorrespiração.

#### **b) Ciclo C<sub>4</sub> ou Ciclo de Hatch e Slack:**

A partir de trabalhos preliminares realizados com a utilização de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> em plantas de cana-de-açúcar (H.P. Kotshack e colaboradores, Hawaii, USA) e de milho (Y. Karpilov e colaboradores, Rússia), foi observado que, ao contrário do que se verificava em plantas C<sub>3</sub>, o primeiro produto estável formado na fotossíntese dessas plantas apresentava quatro carbonos. M.D. Hatch and C.R. Slack elucidaram, em 1966, o **Ciclo C<sub>4</sub>**, com a publicação do trabalho intitulado “Fotossíntese em folhas de cana-de-açúcar: uma nova reação de carboxilação e uma via de formação de açúcar”. Nesse trabalho, foram apresentadas algumas características marcantes observadas em plantas C<sub>4</sub>. Uma característica importante das C<sub>4</sub> é a ocorrência de

uma anatomia especial, que possibilita a disposição dos tecidos das suas folhas em dois compartimentos: as células do mesofilo e a estrutura conhecida como células da bainha dos feixes vasculares ou anatomia *Kranz*, palavra alemã que significa *halo* ou *concêntrica*, embora existam poucos relatos da ocorrência da via  $C_4$  em plantas sem anatomia Kranz.

Hatch e Slack demonstraram que o Ciclo  $C_4$  ocorre em quatro etapas. Na primeira etapa, de *carboxilação*, o  $CO_2$ , ou mais precisamente, o carbonato ( $HCO_3^-$ ) formado pela enzima anidrase carbônica (AC), combina-se, no citossol, com um composto de três carbonos, o *fosfoenolpiruvato* (PEP), originando um *ácido orgânico* de quatro carbonos, o *oxalacetato*. Essa reação é catalisada por uma enzima citossólica, a *PEPcase*, que, ao contrário da RUBISCO, atua apenas como carboxilase e apresenta elevada afinidade por carbonato. O *oxalacetato* é rapidamente transformado em dois outros ácidos orgânicos: *malato* ou *aspartato*. Tem início, então, a segunda etapa do Ciclo: o *transporte*, onde um desses ácidos orgânicos é transportado para as células da bainha através de conexões plasmodesmáticas, estruturas observadas em grande quantidade nas células localizadas na fronteira (no limite) entre as células do mesofilo e as células da bainha. Nas células da bainha ocorre a *descarboxilação* do ácido orgânico transportado, na *terceira etapa* do processo. O  $CO_2$  liberado nas células da bainha é incorporado à RuBP pela ação da *RUBISCO*, que em função da quantidade de  $CO_2$  liberado pela descarboxilação do malato ou aspartato, atua quase que exclusivamente como *carboxilase*. Nessas plantas, portanto, o primeiro açúcar formado também é o *3PGAld*, mostrando que, em essência, todas as plantas são  $C_3$ . Por sua vez, a substância ou o ácido de três carbonos formado após a descarboxilação é transportado de volta para as células do mesofilo, na última etapa do processo de fotossíntese  $C_4$ , *regenerando* o PEP. Além do fato da concentração de  $CO_2$  nas células do mesofilo reduzir a atuação da RUBISCO como oxigenase, mesmo que alguma fotorrespiração aconteça, o  $CO_2$  que poderia ser perdido através dos estômatos é recapturado pela elevada afinidade ou eficiência de carboxilação da *PEPcase*. Portanto, as plantas  $C_4$  não apresentam fotorrespiração aparente (detectável pelos métodos de trocas gasosas), embora sob o ponto de vista bioquímico ela possa ocorrer, não resultando, todavia, em perda líquida de carbonos em presença de luz.



Existem plantas que transportam *malato* e outras que transportam *aspartato* para as células da bainha. Além disso, as enzimas que atuam na *descarboxilação* dos ácidos de quatro carbonos nas células da bainha são específicas, o mesmo ocorrendo com o ácido orgânico ou com a substância de *três carbonos* que *retorna ao mesofilo*. O quadro a seguir resume o que ocorre em três grupos de plantas  $C_4$ .

Principal ácido de 4C transportado para as células da bainha:	Enzima de descarboxilação:	Local da descarboxilação	Principal ácido ou substância de 3C que retorna às células do mesofilo:	Exemplo de planta:
Malato	Enzima málica dependente de NADP (EM-NADP)	(cloroplasto)	Piruvato	Milho, cana-de-açúcar, sorgo
Aspartato	Enzima málica dependente de NAD (EM-NAD)	(mitocôndria)	Alanina	Mileto, <i>Panicum</i>
Aspartato	Fosfoenol piruvato carboxiquinase (PEP-CK)	(citoplasma)	Alanina/piruvato	<i>Panicum maximum</i>

Portanto, no Ciclo  $C_4$ , há uma *separação espacial* entre a *assimilação* ou *incorporação* do carbono e a sua *carboxilação* através do Ciclo de Calvin, sendo a *primeira mesofílica* e a *segunda* específica das *células da bainha*, o que resulta, praticamente, no desaparecimento da fotorrespiração, aumentando a eficiência fotossintética dessas plantas em ambientes secos e com temperaturas mais elevadas. Todavia, esse mecanismo de concentração de carbono nas células da bainha apresenta um maior custo energético. A relação entre a quantidade de ATP



e de NADPH<sub>2</sub> consumidos por molécula de CO<sub>2</sub> incorporada em plantas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> é apresentada a seguir:

Tipo de planta:	CO <sub>2</sub>	NADPH <sub>2</sub>	ATP
Plantas C <sub>3</sub>	1	2	3
Plantas C <sub>4</sub>	1	2	5

Como se observa, a concentração de CO<sub>2</sub> nas células da bainha, possibilitada pelo mecanismo C<sub>4</sub>, resulta no consumo de 2 ATPs a mais que nas plantas C<sub>3</sub>. Tal fato resulta na necessidade das plantas C<sub>4</sub> apresentarem fotossíntese mais intensa do que as C<sub>3</sub>, o que, realmente, acontece, especialmente em ambientes com temperaturas elevadas (ótimo de 35°C) e com reduzida disponibilidade de água e alta luminosidade. Em ambientes frios e sombreados, as plantas C<sub>3</sub> apresentam maior eficiência que as C<sub>4</sub> devido ao menor consumo energético (ATP) e ao seu baixo ponto de compensação luminoso.

Descoberto em gramíneas tropicais como em milho e cana-de-açúcar, o ciclo C<sub>4</sub> ocorre sabidamente em 16 famílias, tanto de monocotiledôneas quanto de eudicotiledôneas, sendo proeminente em Poaceae (milho, cana, mileto, sorgo, *Panicum*), Chenopodiaceae (*Atriplex*) e Cyperaceae. Em espécies arbóreas, o único caso de planta C<sub>4</sub> conhecido é restrito a uma Euphorbiaceae (*Euphorbia forbesii*). Aproximadamente, 1% de todas as espécies conhecidas são C<sub>4</sub>. O quadro a seguir apresenta uma comparação entre C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>.

#### **Metabolismo Ácido das Crassuláceas (MAC ou CAM):**

Um mecanismo bastante interessante de fotossíntese foi descoberto em Crassulaceae, família onde a maioria das espécies apresenta tecidos suculentos. Essas plantas são tipicamente de regiões quentes e com baixa frequência de chuvas (até desérticas), mostrando elevada tolerância à seca. O mecanismo fotossintético CAM também é observado em plantas de outras famílias quando mantidas em ambientes secos e quentes, como nas Bromeliaceae, Liliaceae, Orchidaceae, Cactaceae, Euphorbiaceae e Portulacaceae.

#### **Características diferenciais entre plantas C<sub>3</sub> e plantas C<sub>4</sub>:**

Processo	Plantas C <sub>3</sub>	Plantas C <sub>4</sub>
<b>1. Fotorrespiração:</b>	Presente: 25 a 30% do valor da FS	Presente: não mensurável pelos métodos de trocas gasosas
Processo	Plantas C <sub>3</sub>	Plantas C <sub>4</sub>
<b>2. Primeiro produto estável:</b>	Ácido fosfoglicérico (3C)	Ácido oxalacético (4C)
<b>3. Ponto de Compensação de CO<sub>2</sub>:</b>	Alto: 50-150 ppm de CO <sub>2</sub>	Baixo: 0-10 ppm de CO <sub>2</sub>
<b>4. Anatomia foliar:</b>	Ausência de bainha vascular; quando presente não contém cloroplastos.	Diferenciação de células do mesofilo e bainha vascular contendo cloroplastos (existem exceções)
<b>5. Enzima primária de carboxilação:</b>	RUBISCO (Km ≈ 20 μM)	PEP-carboxilase (Km ≈ 5 μM)
<b>6. Efeitos do oxigênio (21%) sobre a fotossíntese:</b>	Inibição (± 25%)	Sem efeito
<b>7. Fotossíntese versus intensidade de luz:</b>	Satura em ≈ 1/3 da radiação solar máxima	Satura somente em radiação solar elevada
<b>8. Temperatura ótima para a fotossíntese:</b>	≈ 25°C	≈ 35°C
<b>9. Taxa de fotossíntese líquida em condições de saturação luminosa:</b>	15-35 mg CO <sub>2</sub> incorporado dm <sup>-2</sup> de folha h <sup>-1</sup>	40-80 mg CO <sub>2</sub> incorporado dm <sup>-2</sup> de folha h <sup>-1</sup>
Processo	Plantas C <sub>3</sub>	Plantas C <sub>4</sub>
<b>10. Consumo de água para produção de matéria seca:</b>	450-1000 g de H <sub>2</sub> O g <sup>-1</sup> de peso seco	250-350 g de H <sub>2</sub> O g <sup>-1</sup> de peso seco
<b>11. Conteúdo de nitrogênio na folha para atingir fotossíntese máxima:</b>	6,5-7,5% do peso seco	3,0-4,5% do peso seco

Estudos envolvendo plantas dessas famílias demonstraram que, em decorrência do ambiente muito seco e quente, elas não abrem estômatos durante o dia, pois sofreriam desidratação severa. Em decorrência disso, essas plantas

desenvolveram um mecanismo em que elas *captam o CO<sub>2</sub> atmosférico à noite, armazenando-o no vacúolo* na forma de *ácido málico*. Esse fato resulta na acidificação dos tecidos dessas plantas, daí a denominação do Ciclo de *Metabolismo Ácido das Crassuláceas*. No dia seguinte, elas promovem a *descarboxilação* do malato, liberando o CO<sub>2</sub> internamente, concentrando o ambiente em CO<sub>2</sub>. Como os estômatos estão fechados, e nessas plantas o fechamento é muito eficiente (condutância estomática próxima a zero), o CO<sub>2</sub> não é perdido mesmo que a RUBISCO atue como oxigenase. Portanto, essas plantas, de modo similar às C<sub>4</sub>, também não apresentam fotorrespiração aparente. A incorporação do carbono à noite, tal como em plantas C<sub>4</sub>, também envolve a *carboxilação* do fosfoenolpiruvato (PEP) pelo CO<sub>2</sub>, ou, mais precisamente, pelo carbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), o que ocorre no citossol com a participação da *PEPcase*, originando o *oxalacetato*. Esse por sua vez é transformado em *malato*, que é armazenado no *vacúolo* na forma de *ácido málico*. No dia seguinte, o ácido málico é transportado para fora do vacúolo, sendo, então, descarboxilado pela *EM-NADP* nos *cloroplastos*. O CO<sub>2</sub> liberado é incorporado à RuBP pela ação da RUBISCO, que atua quase que exclusivamente como carboxilase, devido a elevada concentração interna de CO<sub>2</sub> nos tecidos das plantas.

Nas plantas CAM o que se observa, portanto, é uma *separação temporal* entre a *assimilação do carbono*, que ocorre *à noite*, e a *fixação* que ocorre *durante o dia* através do *Ciclo de Calvin*, resultando, também, na produção do *3-PGAld* como primeiro açúcar formado, apresentando as plantas CAM, tal como as C<sub>4</sub>, também o Ciclo C<sub>3</sub>. Todavia, quando bem irrigadas e cultivadas em temperaturas amenas, as plantas CAM funcionam exatamente como uma planta C<sub>3</sub> típica, abrindo os estômatos durante o dia e realizando fotossíntese com a participação da RUBISCO, dispensando a separação temporal dos processos passando, portanto, a apresentar fotorrespiração aparente.

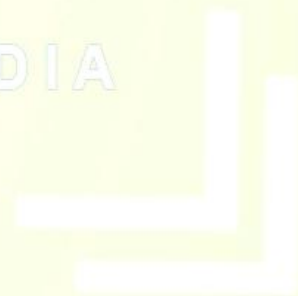
Não há um mecanismo fotossintético (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> ou CAM) mais eficiente do que outro, pois a eficiência de cada um depende diretamente do ambiente onde as respectivas espécies vegetais são cultivadas ou/ou mantidas. A tabela a seguir apresenta uma relação de espécies C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, incluindo monocotiledôneas e eudicotiledôneas.



LOGIA

ETAL

PRÁTICA EM MULTIMÍDIA





**Relação de Espécies Monocotiledôneas e Eudicotiledôneas (C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub>):**

<p><b>Monocotiledôneas – C<sub>4</sub>:</b></p> <p><b>Cyperaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Cyperus esculentus</i> L.</li> <li>- <i>Cyperus rotundus</i> L. (Tiririca)</li> </ul> <p><b>Aristidoideae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Aristida purpurea</i> Nutt.</li> </ul> <p><b>Eragrostoideae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Chloris gayana</i> Kunth (Capim-rhodes)</li> <li>- <i>Cynodon dactylum</i> (L.) Pers. (Grama Bermudas)</li> <li>- <i>Eragrotis pilosa</i> (L.) Beauv.</li> </ul> <p><b>Panicoideae (Subfamília de gramínea = Poaceae):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Andropogon scoparius</i> Michx.</li> <li>- <i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.</li> <li>- <i>Panicum antidotale</i> Retz.</li> <li>- <i>Panicum capillare</i> L.</li> <li>- <i>Paspalum notatum</i> Flügge</li> <li>- <i>Pennisetum purpureum</i> Schum. (Capim-gordura)</li> <li>- <i>Saccharum officinarum</i> L. (Cana-de-açúcar)</li> <li>- <i>Setaria italica</i> (L.) Beauv.</li> <li>- <i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench. (Sorgo)</li> <li>- <i>Zea Mays</i> L. (Milho)</li> </ul>	<p><b>Monocotiledônea - C<sub>3</sub>:</b></p> <p><b>Cyperaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Cyperus alternifolium gracillis</i> L.</li> </ul> <p><b>Graminae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Andropogon repens</i> (L.) Beauv.</li> <li>- <i>Agrotis alba</i> L.</li> <li>- <i>Avena sativa</i> L. (Aveia)</li> <li>- <i>Hordeum vulgare</i> L. (Cevada)</li> <li>- <i>Oryza sativa</i> L. (Arroz)</li> <li>- <i>Panicum commutatum</i> Schult.</li> <li>- <i>Poa pratensis</i> L. (grama azul)</li> <li>- <i>Triticum aestivum</i> L. (Trigo)</li> </ul>
<p><b>Eudicotiledônea – C<sub>4</sub>:</b></p> <p><b>Amaranthaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Amaranthus albus</i> L.</li> <li>- <i>Atriplex rosea</i> L.</li> <li>- <i>Gomphrena globosa</i> L.</li> </ul>	<p><b>Eudicotiledôneaes - C<sub>3</sub>:</b></p> <p><b>Chenopodiaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Atriplex hastata</i> L.</li> <li>- <i>Beta vulgaris</i> L. (Beterraba)</li> <li>- <i>Chenopodium album</i> L.</li> <li>- <i>Spinacea oleraceae</i> L.</li> </ul>

<p><b>Euphorbiaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Euphorbia maculata</i> L.</li> <li>- <i>Euphorbia phorbesii</i> L.</li> </ul> <p><b>Portulacaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Portulaca oleraceae</i> L.</li> </ul>	<p>(Espinafre)</p> <p><b>Cruciferae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Brassica nigra</i> (L.) Koch. (Mostarda)</li> </ul> <p><b>Compositae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Helianthus annus</i> L. (Girassol)</li> <li>- <i>Lactuca sativa</i> L. (Alface)</li> <li>- <i>Xanthium strumarium</i> L.</li> </ul> <p><b>Leguminosae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Arachis hypogea</i> L. (Amendoim)</li> <li>- <i>Glycine max</i> (L.) Merrill (Soja)</li> <li>- <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (Feijão)</li> </ul> <p><b>Malvaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Gossypium hirsutum</i> L. (Algodão)</li> </ul> <p><b>Solanaceae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Datura stramonium</i> L.</li> </ul> <p><b>Umbelliferae:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Daucus carota</i> L. (Cenoura)</li> </ul>
---	---

#### 4. RELAÇÕES HÍDRICAS:

A molécula de água (H<sub>2</sub>O), embora *eletricamente neutra*, funciona como um *dipolo*. Esse funcionamento é resultante da *ligeira separação de cargas* que se verifica entre os dois átomos de *hidrogênio* e o átomo de *oxigênio*. Por ser mais eletronegativo do que o hidrogênio, o oxigênio tende a atrair mais fortemente os elétrons da ligação covalente. Essa atração desigual resulta em uma *carga negativa parcial* na extremidade da molécula formada pelo *oxigênio* e uma *carga positiva parcial* para cada *hidrogênio*. Essas cargas parciais são iguais, de modo que a molécula de água não possui carga líquida.

As cargas parciais opostas entre moléculas de água vizinhas tendem a atraí-las mutuamente. A *fraca atração eletrostática entre moléculas de água*, conhecida como *ligações (ou pontes) de hidrogênio*, é responsável por muitas das propriedades físicas da água. Ligações de hidrogênio também podem se formar entre moléculas de água e outras moléculas que contenham átomos eletronegativos (**O** e **N**). Em soluções aquosas, as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água geram grupamentos ordenados ("*penas oscilantes*") locais, que devido à agitação térmica constante das moléculas de água, continuamente formam-se, quebram-se e se refazem.

A *polaridade da água* torna sua molécula um *excelente solvente*. Ela dissolve quantidades maiores de uma variedade muito mais ampla de substâncias do que outros solventes correlatos. Essa *versatilidade* deve-se, em parte, ao *pequeno tamanho* de sua molécula e, em parte, a sua *natureza polar*, tornando-a um solvente particularmente bom para substâncias iônicas e para moléculas como os açúcares e as proteínas, que contêm grupos polares (–OH e –NH<sub>2</sub>).

As ligações de hidrogênio entre moléculas de água e íons e entre a água e solutos polares em solução reduzem efetivamente a atração eletrostática entre substâncias carregadas, aumentando, portanto, a sua solubilidade. Além disso, as *extremidades polares das moléculas de água* podem *orientá-las* para perto de *grupos carregados* ou parcialmente carregados de macromoléculas, formando *capas de hidratação*. As ligações de hidrogênio entre macromoléculas e a água reduzem a interação entre as macromoléculas e ajudam na sua solubilização. Em função dessas características, a água é considerada um *solvente universal*.

As numerosas *ligações de hidrogênio* entre as moléculas de água resultam em *propriedades térmicas incomuns* como, por exemplo, *calor específico* e *calor latente de vaporização* elevados:

- *Calor específico*: representa a quantidade de calor necessária para aumentar a temperatura de uma substância até um determinado valor. Para se aumentar a temperatura de 1 g de água pura em 1°C é necessária uma caloria (1 cal = 4,1868 J). A água apresenta um elevado calor específico e, quando comparada a outros líquidos, ela *requer uma adição de energia relativamente grande para aumentar a sua temperatura*, o que contribui para a *manutenção do equilíbrio da temperatura* da planta.
- *Calor latente de vaporização*: representa a quantidade de *energia necessária para separar* as moléculas da fase *líquida* e levá-las para a fase *gasosa*, à temperatura constante. Para a *água* a 25°C, o calor latente de vaporização é de 44 kJ mol<sup>-1</sup> (586 cal), o *valor mais alto determinado para líquidos*. O elevado calor latente de vaporização da água permite às plantas *dissipar calor* e se *refrescarem por evaporação* da água das superfícies foliares (o que ocorre durante a transpiração), em decorrência do acréscimo de radiação proveniente do sol. A *transpiração* é um *componente importante* para a redução da temperatura foliar e para a regulação térmica das plantas;

Outras propriedades das moléculas de água como a *coesão*, a *adesão* e a *tensão superficial* também são devidas às ligações de hidrogênio.

- *Coesão*: a *atração mútua* entre as moléculas de *água* devido às ligações de hidrogênio é responsável por essa propriedade. A *coesão* existente entre as moléculas de água *confere* a elas *elevada resistência à tensão* (pressão negativa);
- *Adesão*: refere-se à *atração* que as moléculas de *água* apresentam por *superfícies sólidas*. As moléculas de água tendem a aderir às superfícies carregadas tanto de capilares de vidro quanto nos capilares do xilema (parede celular);
- *Tensão superficial (T)*: as moléculas de *água* na *interface ar-água* são *mais atraídas* por suas *próprias moléculas* do que pela *fase gasosa*, o que também ocorre em função das ligações de hidrogênio. Como consequência dessa atração desigual, a interface ar-água minimiza a sua área superficial. A *energia* necessária para *aumentar a área superficial* é conhecida como *tensão superficial*. A *tensão superficial nas superfícies de evaporação das folhas* gera as **forças físicas** (pressão hidrostática) que "*tracionam*" a *seiva xilemática pelo sistema vascular das plantas*.



As moléculas de água apresentam elevada resistência à tensão, o que está diretamente associado à *coesão* entre as suas moléculas. Se utilizarmos uma seringa de vidro com água e fecharmos a sua ponta com os dedos, ao tentarmos “arrancar” o seu embolo (criamos uma pressão negativa), poderemos verificar, instantaneamente, a elevada resistência à tensão que as moléculas de água apresentam. Por mais força que empregamos no embolo, não é possível retirá-lo e nem “quebrar” a coluna de água, o que ocorre, justamente, em decorrência da *coesão* entre as suas moléculas. Estudos demonstraram que a água tolera tensões de até - 26,4 MPa (264 atm) sem sofrer rupturas. Paralelamente, os pequenos capilares do xilema também são capazes de resistir a tensões de até - 30MPa (296 atm), sem o seu colapamento. Todavia, as elevadas tensões desenvolvidas no xilema, podem levar ao fenômeno da *cavitação*, que resulta da formação de bolhas de vapor de água ao longo dos vasos do xilema. Em árvores, essas bolhas podem ser ouvidas como “*clics*” empregando-se microfones de alta sensibilidade.

As forças de *coesão*, *adesão* e *tensão superficial* somadas são responsáveis pelo fenômeno da *capilaridade* observado tanto em estruturas físicas quanto em sistemas biológicos. A capilaridade se caracteriza como um movimento da água resultante da sua atração por superfícies polarizadas de tubos (adesão) e da elevada força de coesão de sua molécula, o que possibilita o “tracionamento” da coluna sem a sua quebra, mesmo sob condições de baixa disponibilidade de água.

Seria a capilaridade, o principal mecanismo de ascensão da seiva xilemática? Para respondermos essa questão vamos analisar a equação e a tabela a seguir:

$$h = \frac{1,49 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2}{\text{raio (m)}}$$

Raio do capilar de vidro (µM)	Altura (cm)
1	149
100	1,49
1000	0,149
<b>75 µm (capilar de xilema típico)</b>	<b>2,0</b>

Como se percebe, a altura máxima alcançada (**h**) por capilaridade é inversamente proporcional ao raio do vaso. Adicionalmente, os capilares do xilema apresentam diferenças importantes em relação aos capilares de vidro, o que faz com que a altura máxima alcançada seja ainda menor (menor que 2 cm), reduzindo a possibilidade de a capilaridade ser o principal mecanismo de ascensão da seiva xilemática, principalmente para plantas de maior porte, como as árvores, por exemplo. Além disso, no xilema, a coluna de água é contínua, desde as raízes até os terminais (traqueídeos) nas folhas, não existindo ao longo desse sistema vascular a interface ar-água, responsável pela criação da tensão superficial. Todavia, não podemos desconsiderar a contribuição da capilaridade para a realização do processo.

Qual é, então, o mecanismo responsável pelo transporte de água (seiva xilemática) através da planta? A resposta para esse questionamento implica no estudo de dois outros tipos de transporte observados em sistemas físicos e biológicos: a *difusão* e o *fluxo em massa*.

#### Difusão:

A *difusão* é um mecanismo de transporte que se caracteriza pelo *movimento* de moléculas em *resposta a gradientes de concentração* ( $\Delta C$ ). A difusão é um movimento termo-caótico que ocorre ao acaso. Se colocarmos um corante em um dos extremos de um recipiente com água, após algum tempo, por difusão, todo o recipiente estará uniformemente colorido. A difusão em líquidos é mais lenta, mas a difusão dos gases é bastante rápida.

Na década de 1880, o alemão Adolf Fick descobriu que a *taxa de difusão* de substâncias é *diretamente proporcional ao gradiente de concentração*, estabelecendo as bases da *1ª. Lei de Fick*, representada pela equação a seguir:

$$J_s = - D_s \frac{\Delta C_s}{\Delta x}$$

**Onde:**  $J_s$  = densidade de fluxo ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

$D_s$  = coeficiente de difusão

$\Delta C_s / \Delta x$  = diferença de concentração entre dois pontos

O coeficiente de difusão ( $D_s$ ) é uma constante de proporcionalidade que mede o quão mais facilmente a substância  $s$  se move através de um determinado

meio, sendo uma característica da substância (moléculas maiores têm menores valores de  $D_s$ ) e também dependente do meio de difusão (no ar é mais rápido do que em líquidos). O sinal negativo da equação indica que o movimento ocorre *a favor* do gradiente de concentração. Pela equação, verifica-se que uma substância se difunde mais rapidamente quando o  $\Delta C_s$  torna-se mais acentuado ou quando o  $D_s$  é aumentado.

Em função disso, seria a *difusão* o mecanismo responsável pelo fluxo da seiva no xilema? A resposta para este questionamento pode ser obtida pela análise do quadro a seguir, que emprega uma equação matemática derivada a partir da 1ª. Lei de Fick. Essa equação estima a metade do *tempo necessário para uma determinada substância se difundir ao longo de uma distância específica*. Pela equação, é possível verificar que o *tempo exigido para uma substância se difundir aumenta em proporção ao quadrado da distância* de difusão:

Pela 1ª. Lei de Fick, temos que:

$$J_s = - D_s \frac{\Delta C_s}{\Delta x}$$

A partir da derivação da 1ª. Lei de Fick, temos que:

$$T_{C_{1/2}} = \frac{(\text{distância})^2}{D} \cdot K$$

Onde: D = coeficiente de difusão

K = constante (depende da forma do sistema, K = 1)

$T_{C_{1/2}}$  = metade do tempo necessário para o movimento

**Exemplo da difusão da sacarose em água:**

**Distância intracelular (50  $\mu\text{m}$ ; D =  $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ):**

$$T_{C_{1/2}} = \frac{(50 \cdot 10^{-6} \text{ m})^2}{10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} = 2,5 \text{ s}$$

**Para uma distância de 1 m (altura de uma planta):**

$$T_{C_{1/2}} = \frac{(1 \text{ m})^2}{10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} = 10^9 \text{ s} \approx \mathbf{32 \text{ anos}}$$

Os valores encontrados indicam que a difusão em líquidos (soluções) somente é *rápida* em *dimensões intracelulares* (distâncias curtas), mas é *demasiadamente lenta* para transporte de massas a *longas distâncias*, o que impossibilita que o fenômeno da difusão seja o principal mecanismo de transporte de água no xilema.

Que mecanismo, então, é responsável pelo fluxo da seiva no xilema? O *fluxo em massa* é definido como um *movimento conjunto de grupos de moléculas em resposta a gradientes de pressão*. Jean Leonard Marie Poiseuille (1797-1869) foi um médico/fisiologista francês que estabeleceu as bases matemáticas para se estudar esse tipo de movimento. Conforme os estudos de *Poiseuille*, a *taxa de fluxo volumétrico* ( $\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$ ) depende do *raio* ( $r$ ) do tubo, da *viscosidade* ( $\eta$ ) do líquido e do *gradiente de pressão* ( $\Delta \Psi_p / \Delta x$ ) que governa o fluxo, conforme equação a seguir, que ficou conhecida como *Lei de Poiseuille*:

$$TFV = \frac{\pi r^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{\Delta x} \quad (\text{m}^3 \text{ s}^{-1})$$

Pela equação observa-se que o *fluxo em massa* governado por pressão é muito *sensível* ao aumento do *raio do tubo*. Se o *raio* do tubo for *duplicado*, a *taxa de fluxo volumétrico aumenta* por um fator de *16 vezes* ( $2^4$ ), o que contrasta com a necessidade de um diâmetro muito reduzido dos vasos do xilema para o transporte por capilaridade. Além disso, o fluxo em massa independe da concentração (desde que a viscosidade da solução permaneça constante).

O fluxo em massa de água é, portanto, o principal mecanismo responsável pelo transporte de longa distância de água no xilema, explicando, também, a maior parte do fluxo de água no solo e nas paredes celulares dos tecidos vegetais.

A *osmose* é um tipo de movimento que se *relaciona tanto à difusão quanto ao fluxo em massa*, sendo um processo espontâneo. A osmose pode ser definida como a *passagem de um solvente*, através de uma *membrana semi-permeável*, do



meio mais diluído para o mais concentrado. A direção e a taxa de fluxo da água (em osmose) através de uma membrana não são determinadas apenas pelo gradiente de concentração de água ou pelo gradiente de pressão, mas pela soma dessas duas forças propulsoras.

Estudos iniciais indicaram que a difusão da água através da dupla camada lipídica não era suficiente para explicar as taxas de movimento observadas através das membranas. Essas dúvidas foram desfeitas com a descoberta das *aquaporinas*, proteínas integrais de membrana que formam canais seletivos à água através da membrana. Embora as aquaporinas aumentem a velocidade do fluxo de água, elas não interferem na direção do transporte, que se dá *sempre* em favor do gradiente de potencial hídrico.

#### *Grau de Hidratação das plantas e os Potenciais da Água:*

A estimativa da quantidade de água em uma planta ou do grau de hidratação de seus tecidos pode ser obtida pela determinação do potencial hídrico ou através da determinação do teor relativo de água. O *potencial hídrico* de uma folha é obtido levando-se em conta o *potencial químico* das moléculas de água. O *potencial químico* da água é uma expressão quantitativa da *energia livre* a ela associada. Em termodinâmica, a *energia livre* (energia livre de Gibbs) é uma medida do *potencial para realizar trabalho*.

O potencial químico é uma grandeza *relativa* que expressa a diferença entre o *potencial químico* de uma *substância* em um *determinado estado* e o *potencial químico* da *mesma substância* em *estado padrão*. Por convenção, estabeleceu-se que o *potencial químico* da *água pura* (estado padrão onde somente existem moléculas de H<sub>2</sub>O) é igual a 0 (zero). Essa situação não existe em sistemas biológicos, representando uma condição hipotética de máxima energia livre das moléculas. Em decorrência disso, nos sistemas biológicos, a energia livre da água sempre é *reduzida*, sendo os valores dos seus potenciais *sempre negativos*. Portanto, o potencial hídrico em um tecido vegetal representa o valor do potencial químico da água, nesse tecido, comparado com o potencial químico da água pura ( $\Psi_w^* = 0$ ). O potencial hídrico é simbolizado pela letra grega *psi* ( $\Psi_w$ ), sendo uma medida da energia livre da água por unidade de volume (J m<sup>-3</sup>). Essas medidas são equivalentes a unidades de pressão, sendo utilizada o Pascal (Pa), mais especificamente o *Mega Pascal* (MPa). Como exemplo, 0,1 MPa equivale a 1 Bar, que, por sua vez, equivale a 0,987 atm (aproximadamente 1 atm).

O  $\Psi_w$  (potencial hídrico total) apresenta diferentes componentes, sendo considerados, comumente os fatores *pressão*, *concentração*, *gravidade* e *superfície*, cuja contribuição de cada um depende dos tecidos ou do sistema em questão. A equação a seguir resume a contribuição desses componentes para o  $\Psi_w$ :

$$\Psi_w = \Psi_p + \Psi_s + \Psi_g + \Psi_m \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

$\Psi_w$  = potencial hídrico total (MPa);

$\Psi_p$  = potencial hidrostático (ou de parede)  $\Rightarrow$  condicionado pela dureza da parede celular (positivo) ou pela pressão negativa no xilema. Ao nível celular, contribui para o aumento da energia livre da água impondo resistência à expansão da parede celular;

$\Psi_s$  = potencial osmótico (ou de solutos)  $\Rightarrow$  os solutos reduzem a energia livre da água por diluição da mesma. Esse é primariamente um efeito de entropia, ou seja, a mistura de solutos e água *aumenta a desordem do sistema* e, portanto, *reduz a energia livre*. Para *soluções diluídas de substâncias indissociáveis*, como a sacarose, a potencial osmótico pode ser estimado pela *equação de van't Hoff*: ( $\Psi_s = -RTC$ , onde:  $R$  = constante dos gases (8,32 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>);  $T$  = temperatura absoluta em Kelvin (273 + temperatura °C);  $C$  = concentração de solutos na solução expressa em osmolalidade (moles de soluto L<sup>-1</sup> de água). O sinal negativo indica que os solutos dissolvidos reduzem o potencial hídrico da solução em relação ao  $\Psi_w^*$ );

$\Psi_g$  = potencial gravitacional  $\Rightarrow$  condicionado pelo peso da coluna de água (negativo). A gravidade faz com que a coluna de água mova-se para baixo. É representada pelo termo  $\Psi_g = \rho_w gh$ , onde  $\rho_w g$  tem o valor de 0,01 MPa m<sup>-1</sup>. Assim, uma distância vertical de 10 m traduz-se em uma mudança de 0,1 MPa no potencial hídrico. Quando se lida com o transporte de água ao nível celular o componente gravitacional é desprezível. Todavia, ao longo do xilema em plantas acima de 10 m, a sua contribuição negativa deve ser considerada conforme veremos mais adiante;

$\Psi_m$  = potencial matricial  $\Rightarrow$  relacionado à adsorção (embebição) das moléculas de água a diferentes estruturas. Envolve interações das moléculas de água com as superfícies de estruturas como das paredes celulares, do amido e das diferentes membranas biológicas através de suas porções hidrofílicas. Também atua reduzindo a energia livre da água.

Alternativamente à equação 1, uma notação diferente pode ser utilizada para expressar o potencial hídrico total nos tecidos das plantas. Ela, como veremos, envolve componentes expressos em termos de pressão (equação 2):

$$\Psi_w = P - \pi - g - \tau \text{ (Equação 2)}$$

Onde:

$\Psi_w$  = Potencial hídrico total (MPa);  
 $P$  = Pressão hidrostática ou de parede;  
 $\pi$  = Pressão osmótica (ou de solutos);  
 $g$  = Pressão gravitacional;  
 $\tau$  = Pressão matricial.

Comparando-se a equação 1 com a equação 2, temos, que:

$$\begin{aligned}\Psi_w &= \Psi_w \\ \Psi_p &= P \\ \Psi_s &= -\pi \\ \Psi_g &= -g \\ \Psi_m &= -\tau\end{aligned}$$

Na planta, o  $\Psi_w$  pode ser determinado com a utilização das bombas de pressão (bomba de Schollander) e, no solo, com a utilização dos tensiômetros.

#### Fluxo de água no solo:

As taxas de transporte de água do solo para as raízes dependem da força propulsora e da condutividade hidráulica do solo e das membranas das células radiculares. O solo apresenta três componentes fundamentais para o crescimento das plantas: a *estrutura*, propiciada por seus diferentes constituintes físicos (areia, silte e argila), a *água* e o *ar*. A quantidade de água no solo depende do tipo de solo (*argiloso* ou *arenoso*) e da precipitação atmosférica (*chuvas*) ou das *irrigações*. Os solos *arenosos* apresentam *menor retenção* de água, drenando mais enquanto que os solos *argilosos* *retêm mais* a água, *drenando menos*. A matéria orgânica contribui para a retenção de água, principalmente em solos argilosos. Para o crescimento das plantas sob cultivo agrícola os solos arenosos são melhores, desde que se tenha boa disponibilidade de água.

A água no solo fica retida às suas partículas em função dos componentes osmóticos e matriciais, além da pressão hidrostática. O componente osmótico do solo geralmente não interfere de modo prejudicial, a não ser nos solos salinos, onde a quantidade de sais acumulados é muito alta, impedindo o crescimento da maior parte das plantas cultivadas. Valores típicos de potencial osmótico encontram-se na faixa de - 0,02 MPa. Para solos salinos esse componente pode alcançar valores bem mais baixos, na faixa de - 0,2 MPa ou ainda menor. O componente matricial está relacionado, principalmente, à quantidade de matéria orgânica existente no solo e ao filme de água aderido às partículas físicas do solo. A pressão hidrostática ( $\Psi_p$ ) é, provavelmente, o componente mais importante da força de retenção da água no solo. Para solos úmidos o seu valor é próximo à zero. Todavia, à medida que o solo resseca, a  $\Psi_p$  decresce podendo tornar-se extremamente negativo. Isso é devido à elevada *tensão superficial* ( $T$ ) das moléculas de água, que *tendem a reduzir a sua superfície de interação com o ar*. À medida que o solo resseca, a água é removida primeiro do centro dos maiores espaços entre as partículas do solo. Em decorrência das forças de adesão, a água tende a se prender às superfícies das partículas do solo, de forma que *uma grande área de superfície entre a água e o ar do solo se desenvolve*. À medida que o conteúdo de água diminui, a água retrocede para os interstícios entre partículas do solo e as superfícies ar-água tornam-se curvas. A água sob tais superfícies curvas desenvolve uma *pressão negativa*, que pode ser estimada pela relação a seguir:

$$\Psi_p = - \frac{2T}{r} \quad \text{Onde:}$$

$T$  = tensão superficial da água ( $7,28 \times 10^{-8}$  MPa m)

$r$  = raio de curvatura da interface ar-água

Os valores de  $\Psi_p$  podem ser muito negativos porque os raios de curvatura das superfícies ar-água podem tornar-se muito *pequenos* em solos que estão muito secos. Por exemplo, uma curvatura com  $r = 1 \mu\text{m}$  (mais ou menos o tamanho das maiores partículas de argila) corresponde a um valor de  $\Psi_p$  de -0,15 MPa. Os valores do  $\Psi_p$  podem alcançar facilmente -1 a -2 MPa à medida que a interface ar-água recua para as fissuras menores, entre partículas de argila.

A capacidade de campo consiste na capacidade máxima de retenção de água de um solo, parâmetro que corresponde ao conteúdo de água retida no solo



depois de este ter sido saturado com água e de ter sofrido drenagem gravitacional. O solo apresenta macroporos e microporos (capilares). Quando o solo encontra-se em capacidade de campo até os capilares encontram-se cheios, sendo o seu potencial hídrico bastante elevado ( $\Psi_w \approx -0,05$  MPa). Os solos argilosos e ricos em matéria orgânica apresentam maior capacidade de campo do que os arenosos, podendo reter até 40% de água por unidade de volume. Em contraste, os solos arenosos retêm apenas 3% do seu volume após a saturação.

A água também se move no solo por fluxo em massa, governada por gradientes de pressão. À medida que os pêlos radiculares absorvem água eles esgotam a água do solo nas proximidades das suas raízes. Esse esgotamento reduz (torna mais negativa) a pressão hidrostática ( $\Psi_p$ ) da água próxima à superfície radicular e estabelece um gradiente de pressão em relação às regiões vizinhas do solo, que apresentam valores maiores de  $\Psi_p$ . Uma vez que os espaços porosos preenchidos com água interconectam-se no solo, a água move-se em direção à superfície radicular por fluxo em massa através desses canais, em resposta ao gradiente de pressão.

A taxa de fluxo depende do gradiente de pressão e da condutividade hidráulica do solo. Os solos arenosos apresentam maior condutividade hidráulica do que os argilosos. À medida que o conteúdo de água no solo reduz, sua condutividade hidráulica diminui muito, o que ocorre em decorrência da substituição da água nos espaços do solo pelo ar. Em solos muito secos o  $\Psi_w$  do solo pode cair abaixo do que se denomina *ponto de murcha permanente*, que representa a quantidade mínima de água que o solo deve apresentar para a planta não sofrer *danos irreversíveis e morrer*. Em termos agrônômicos, o ponto de murcha permanente encontra-se, em média, próximo ao  $\Psi_w$  de  $-1,5$  MPa ( $\approx 15$  atm). Isso significa que os vacúolos das células das raízes não conseguem mais concentrar íons, impossibilitando que o potencial osmótico e, conseqüentemente, o potencial hídrico das células das raízes fique abaixo do potencial hídrico do solo, podendo, até mesmo, ocorrer perda de água das raízes para o solo. Algumas plantas, todavia, apresentam o fenômeno conhecido como *ajustamento osmótico*, possibilitando uma maior amplitude de acúmulo de íons em seus vacúolos, reduzindo bastante o seu potencial hídrico, bem como apresentando acúmulo de *osmólitos compatíveis* (prolina, glicina-betaína, poliaminas, amônio-quaternário, açúcares, etc), moléculas que protegem os tecidos contra os efeitos prejudiciais da dessecação.

A absorção de água pelas plantas ocorre através de pêlos radiculares, extensões microscópicas das células da epiderme radicular que aumentam significativamente a área de superfície radicular, proporcionando, assim, maior capacidade de absorção de água e de sais do solo. A água e os sais são absorvidos principalmente pela zona pilífera da raiz. Em função da fragilidade dessas estruturas, elas são muito facilmente rompidas, devendo-se manter cuidados especiais com as plântulas quando se efetuam transplantios de mudas. A interação de fungos do solo com as raízes das plantas origina as micorrizas, associação simbiótica que potencializa a absorção de água e nutrientes pelas plantas (principalmente de fósforo).

A água, durante a absorção, pode seguir dois caminhos através das raízes: o *apoplasto*, que se constitui nos espaços intercelulares e de paredes celulares e, o *simplast*, que corresponde ao *continuum citoplasmático*, propiciado pela existência dos *plasmodesmos*. O apoplasto, também denominado *espaço livre aparente*, é limitado pela *endoderme*, camada de células existente entre o córtex e o estelo nas raízes. A endoderme, em função da impregnação de *suberina* (molécula impermeável à água) ao longo da superfície das suas células, constitui em uma barreira à livre penetração da água. Essa estrutura é denominada *Faixa ou Estria de Caspari*. A barreira à livre penetração da água na célula somada à excessiva perda de água pelas folhas gera uma *pressão negativa ou tensão* ( $\Psi_p$  negativo) no xilema das plantas, o que ocorre na maior parte do tempo de vida das plantas. Todavia, em algumas situações específicas e menos comuns para a maioria das plantas, *pressão positiva* (máximo de 0,1 MPa) pode ser observada na seiva do xilema, o que resulta no fenômeno da *gutação*. Para ocorrer gutação, a *umidade relativa do ar* tem que estar *elevada*, a *temperatura* do ambiente deve estar *amena* e *solo* deverá estar *úmido*. Nessas situações, a transpiração é reduzida, criando condições para que as raízes absorvam água suficiente para preencher os vasos do xilema desde as raízes até os seus terminais nas folhas, ocorrendo a perda da seiva xilemática, no estado líquido, através dos hidatódios. Todavia, em função da pressão hidrostática (peso da coluna de água), o limite para a ocorrência de gutação é de aproximadamente 10 m.

A absorção da água está condicionada ao potencial hídrico do solo e dos tecidos das raízes. As células de parênquima localizadas ao redor dos tecidos de condução acumulam grandes quantidades de íons. A absorção desses íons, especialmente dos ânions ocorre ativamente (com gasto de energia), e será discutida no tópico relacionado à nutrição mineral. O acúmulo dos íons faz com que

as células do parênquima tenham seu potencial osmótico reduzido e, por consequência, o potencial hídrico também é reduzido, ficando, geralmente, menor do que o potencial hídrico do solo. Em decorrência disso, o fluxo de água se verifica do solo em direção às raízes. A presença da endoderme impede que a solução absorvida retorne para o solo. A concentração salina nas células de parênquima é elevada e, por isso, a pressão osmótica dessas células fica muito alta, o que possibilita a absorção de grandes quantidades de água do solo. Como o elevado volume de água absorvido não pode ser totalmente armazenado nas células de parênquima, essa solução (água e sais minerais, principalmente) extravasa diretamente nos vasos do xilema, preenchendo todo o seu diâmetro e exercendo pressão positiva sobre as suas paredes (pressão radicular máxima de 0,1 MPa), podendo ser perdida, em estado líquido através dos hidatódios. Em função do acúmulo de íons nas células de parênquima, o transporte da água e o seu extravasamento no xilema (nas raízes e até o colo das plantas) sempre estão acontecendo. Todavia, o fenômeno da gutação desaparece quando a temperatura ambiente se eleva, a umidade relativa do ar diminui e a disponibilidade de água no solo reduz, uma vez que o fenômeno da transpiração passa a operar nessas condições, criando pressões negativas no xilema, que podem chegar até próximo às suas bases (colo), impedindo a ocorrência da gutação.

#### *Rota de ascensão da seiva xilemática:*

Os tecidos do xilema são formados, basicamente, por dois tipos de células: os *traqueídeos* e os *elementos de vasos*. Os *traqueídeos* são *longos*, apresentam *perfurações* (pontuações areoladas) e *extremidades fechadas*. Os *elementos de vaso* são mais *curtos*, *apresentam extremidade aberta*, que podem ser simples ou composta e, também *perfurações*. Essas *perfurações* (pontuações) permitem a transferência lateral da água entre as células. Os tecidos dos *traqueídeos* e dos *elementos de vasos* *morrem quando maduros*, o que ocorre em decorrência da deposição de lignina durante a formação da parede secundária. A deposição de *lignina* nas paredes é um marco da conquista do ambiente terrestre pelas plantas, uma vez que essa substância fenólica confere elevada força tensil aos vasos do xilema, possibilitando que ele resista às elevadas pressões negativas causadas pela transpiração excessiva. Nas regiões das pontuações existem somente parede primária e lamela média. As angiospermas apresentam em sua estrutura elementos de vasos e traqueídeos, ao passo que as gimnospermas apresentam apenas traqueídeos.

#### *Mecanismo de ascensão da seiva:*

A redução do  $\Psi_w$  nas folhas é decorrente da liberação de água para a atmosfera através dos estômatos, processo denominado *transpiração*. Esse processo se caracteriza pela *perda de água*, no *estado gasoso*, para a atmosfera, o que ocorre *por difusão* (processo rápido para gases) das câmaras subestomáticas para o meio externo.

#### ***Difusão para gases (vapor de água):***

$$T_{C_{1/2}} = \frac{(10^{-3} \text{ m})^2}{2,4 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} = \mathbf{0,042 \text{ s}}$$

A perda de água depende do gradiente de vapor entre o interior da folha e meio externo (UR do ar), existindo resistências ao processo difusivo conferidas pelos estômatos, pelos espaços intercelulares, pela camada limítrofe, pelo mesófilo e pela cutícula. A *força dirigida para perda de água* é o *gradiente absoluto de concentração de vapor d'água* ("sucção da copa"). A teoria mais aceita para explicar o fluxo de seiva xilemática através da planta foi proposta por Dixon e Joley, em 1895, sendo conhecida com *teoria tenso-coeso-transpiratória*, *teoria da tensão-coesão*, ou, ainda, *teoria de Dixon e Joley*.

Modernamente essa *teoria propõe* que a *água* encontra-se no *estado líquido* dos *capilares das raízes* até os *terminais do xilema* no mesófilo; que as *perfurações no xilema permitem evaporação* da água (formação de bolhas de vapor de água) mas *impedem a penetração de ar externo* (devido à hidratação dos vasos do xilema); que as *colunas persistem* no xilema por *coesão* (atração entre moléculas de água) e por *adesão* (atração pelas paredes do tubo); e que a *energia* para o *processo* é a *evaporação da água nas folhas* (gradiente absoluto de concentração de vapor d'água), não havendo gasto energético para que o processo ocorra (*processo passivo*).

O *transporte de seiva xilemática* ocorre por *fluxo em massa*, sendo explicado pela *Lei de Poiseuille*. Qual seria então a diferença mínima de gradiente absoluto de concentração de vapor para que o fluxo de água ocorra ao longo de uma planta. A resposta para esse questionamento envolve algumas aferições. A velocidade de fluxo da seiva no xilema varia em função do diâmetro dos vasos. Para árvores com vasos do xilema com raio medindo  $r = 100 - 200 \mu\text{m}$ , a velocidade de



fluxo é de 16 - 45 m h<sup>-1</sup>. Para árvores com vasos de menor diâmetro a velocidade de fluxo cai para 1 - 6 m h<sup>-1</sup> (r = 25 – 75 µm). Observe os cálculos apresentados no quadro a seguir:

**Gradiente de pressão (ΔP) mínimo para ascensão da coluna de água no xilema:**

Dividindo-se a TFV por πr<sup>2</sup> (área da seção transversal do tubo), obtêm-se a velocidade de fluxo (Jv):

$$[TFV = \frac{\pi \cdot r^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{\Delta x}] \div [\pi r^2] \Rightarrow Jv = \frac{r^2}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{\Delta x}$$

Para um arbusto de 1 m, temos:

$$Jv = 4.10^{-3} \text{ m s}^{-1}$$

$$\eta = 10^{-3} \text{ Pa s}$$

$$r = 40 \text{ } \mu\text{m}$$

$$Jv = \frac{r^2}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{\Delta x} \Rightarrow 4.10^{-3} \text{ m s}^{-1} = \frac{(40.10^{-6} \text{ m})^2}{8.10^{-3} \text{ Pa.s}} \cdot \frac{\Delta P}{\Delta x} \Rightarrow$$

$$\frac{\Delta P}{\Delta x} = \frac{0,000032 \cdot \text{ms}^{-1} \text{ Pa.s}}{1,6.10^{-9} \text{ m}^2} \Rightarrow \frac{\Delta P}{\Delta x} = 20.000 \text{ Pa m}^{-1} \Rightarrow \frac{\Delta P}{\Delta x} = \mathbf{0,02 \text{ MPa/m}}$$

Para uma árvore de 100 m:

$$0,02 \text{ MPa} \times 100 \text{ m} = 2 \text{ MPa}$$

$$0,01 \text{ MPa} \times 100 \text{ m} = 1 \text{ MPa} *$$

---


$$\text{Total} = 3 \text{ MPa}$$

\*Peso da coluna de água (pressão hidrostática) equivalente a 0,01 MPa m<sup>-1</sup> (adicionado para árvores acima de 10 m de altura)

Portanto, para uma árvore de 100 m de altura o gradiente absoluto de pressão de vapor mínimo seria de 3 MPa. Em árvores abaixo de 10 m não é necessário adicionar o peso da coluna de água, pois a força da gravidade não exerce resistência suficiente para impedir a ascensão da seiva xilemática. Todavia, a elevada tensão gerada pela transpiração pode resultar em quebras na coluna de água, gerando o fenômeno da *cavitação*, que pode comprometer o sistema (uma das pré-suposições da teoria de Dixon e Joley é que a coluna fique íntegra das raízes até os capilares nas folhas). A cavitação é eliminada por pressão radicular, quando as bolhas são expulsas, ou pela própria redução na temperatura, que permite que as bolhas se desfaçam e que a vaporização reduza. Em casos de danos mecânicos intensos, os vasos do xilema são selados definitivamente pela formação das tiloses ou pela deposição de gomas e resinas. A tensão existente no xilema pode ser determinada com a utilização de bombas pressão (Bomba de Schollander).

A composição da seiva do xilema, que a princípio se considerava constituída apenas de água e sais minerais, atualmente, sabe-se que é composta também de diversas substâncias metabolizadas, incluindo fitormônios (ABA e citocininas), ureídeos e aminoácidos (fixação biológica do nitrogênio), dentre outras substâncias metabolizadas. Em função da pressão positiva gerada pelo acúmulo de íons nas raízes, caules decapitados exsudam seiva, o que possibilitou a identificação dessas substâncias, demonstrando, de modo convincente, que o termo *seiva bruta* deve ser **abolido** das publicações relacionadas ao transporte no xilema, devendo ser **substituído** por **seiva xilemática**.

**Transpiração:**

A transpiração consiste na perda de água, na forma de vapor, de modo relativamente controlado através dos estômatos. O porômetro é um dos equipamentos disponíveis para a medição das trocas gasosas. Esse equipamento determina o grau de abertura estomática, conhecido como condutância estomática (gs). Quanto maior a abertura estomática, maior será o valor da gs.

Diversos fatores podem influenciar na taxa transpiratória, dentre os quais, o déficit de pressão de vapor (UR do ar), a luminosidade, os ventos, a temperatura (do ar e da folha), a radiação luminosa e térmica (IV) e a morfologia das folhas e dos estômatos. Dentre as *funções* da *transpiração*, duas merecem destaque: a contribuição para a *ascensão de íons* (fluxo em massa) e o *resfriamento das folhas*. A primeira, *per si*, não é fundamental, uma vez que existem outros mecanismos que podem operar (contra fluxo de Munch, por exemplo). Todavia, para o **Ca<sup>2+</sup>** e para o **B**, que não são translocados no floema, a contribuição do fluxo xilemático é

importante. O resfriamento das folhas tem na transpiração um importante mecanismo de dissipação de calor. Um balanço líquido de radiação solar nos trópicos e ao nível do mar estabelece que aproximadamente  $0,46 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$  são interceptados pelas folhas. Sob o ponto de vista energético, uma planta mantida sob a luz do sol, alcançaria a temperatura de  $100^\circ\text{C}$  (ferveria) em 1 minuto de exposição caso não apresentasse transpiração e outros mecanismos de dissipação de calor. *O elevado calor latente de vaporização da água consegue dissipar grande parte do calor absorvido, evitando o aquecimento da folha.* Além da transpiração, parte da radiação é dissipada pela emissão, por parte da folha, de radiação de onda longa, condução e convecção de calor para o ar frio (*perda de calor sensível*).

Os estômatos são as principais barreiras à perda excessiva de água. Essas estruturas têm a função de maximizar a fotossíntese e, ao mesmo tempo, minimizar a transpiração. A *razão de transpiração* mede a *relação* entre a *perda de água* e o *ganho de carbono* pela planta. Esse valor é definido como a quantidade de água perdida pela transpiração dividida pela quantidade de dióxido de carbono assimilado pela fotossíntese. A recíproca da razão de transpiração é definida como *eficiência no uso da água*. Em plantas  $C_3$ , cerca de 500 moléculas de água são perdidas para cada molécula de  $\text{CO}_2$  fixada pela fotossíntese, resultando numa eficiência de 0,2%. Em plantas  $C_4$ , 250 moléculas de água são perdidas para cada molécula de  $\text{CO}_2$  fixada pela fotossíntese, resultando numa eficiência de 0,4%, numa maior eficiência no uso da água que as plantas  $C_3$ . Todavia, as plantas CAM são as que apresentam maior eficiência de uso da água, com apenas cerca de 50 moléculas de água perdidas para cada molécula de  $\text{CO}_2$  fixada pela fotossíntese, o que resulta numa eficiência de 2%.

Os mecanismos de funcionamento estomático são resultado da sua morfologia e de processos bioquímicos e fotoquímicos observados na sua estrutura. Os estômatos são estruturas epidérmicas que tipicamente apresentam um conjunto de células, denominadas *células-guarda* e *células anexas* (subsidiárias). A abertura do estômato é denominada *poro* ou *ostíolo*. Quando as células dos estômatos estão túrgidas, o ostíolo encontra-se aberto, permitindo a entrada de  $\text{CO}_2$  e a perda de água na forma de vapor. Quando as células-guarda encontram-se murchas, o ostíolo se fecha ou diminui a sua abertura (*gs*). Tal fato decorre da orientação (micelação) radial das microfibrilas de celulose existentes nas paredes das células-guarda e de espessamentos na sua superfície, que alteram a forma das células. A absorção de água pelas células-guarda é decorrente de processos que resultam no

acúmulo de solutos nos seus vacúolos, aumentando a sua pressão osmótica. Os principais solutos acumulados são o  $\text{K}^+$ , o  $\text{Cl}^-$  e a sacarose, como veremos a seguir.

#### *A abertura estomática:*

O processo de *abertura estomática* ocorre com a *participação da luz*. Logo no *início da manhã* há um *predomínio da radiação azul* sobre a vermelha, sendo a radiação azul aquela que mais estimula a abertura matinal dos estômatos. Assim que as folhas recebem fótons de radiação azul, no início da manhã, essa radiação é captada por um *pigmento receptor* (sensor), que é um carotenóide (*zeaxantina*). Esse *pigmento estimula*, então, o aumento do *bombeamento de  $\text{H}^+$  para fora da célula guarda*, o que é realizado com consumo de ATP (proveniente da fotossíntese ou da respiração) com a *participação* da proteína denominada  *$\text{H}^+$ -ATPase*. Tipicamente a ação dessa proteína é responsável pela manutenção da carga líquida negativa no citossol das células (gradiente de potencial eletroquímico ou potencial de membrana), mas o estímulo da radiação azul aumenta a quantidade de  $\text{H}^+$  transportados para fora, tornando o citossol ainda mais negativo, promovendo alterações de 0,5 a 1 unidade de pH, o que causa alterações de até 50 mV no potencial de membrana. Essa situação torna possível a *abertura de canais de  $\text{K}^+$* , que permitem a entrada desse cátion do meio externo para o citossol. Paralelamente à entrada do  $\text{K}^+$ , átomos de  *$\text{H}^+$  retornam ao citossol trazendo consigo átomos de  $\text{Cl}^-$* , num processo de co-transporte do tipo *simporte*. Além da entrada do  $\text{K}^+$  e do  $\text{Cl}^-$ , a *radiação azul* também estimula a *quebra* de moléculas de *amido* nos cloroplastos ( *$\text{amido} \rightarrow \text{PEP} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{AOA} \rightarrow \text{malato}$* ), resultando na produção do malato, que, em função do pH citossólico, apresenta-se na forma aniônica (*malato<sup>2-</sup>*). O *malato<sup>2-</sup>*, juntamente com o  $\text{Cl}^-$ , são *transportados* para o interior do *vacúolo* das células-guarda, o que ocorre a favor do gradiente de cargas, uma vez que o vacúolo *apresenta carga líquida predominantemente positiva*. Após a entrada desses *ânions* no vacúolo das células-guarda, o  $\text{K}^+$  se difunde para o interior dessa estrutura, permitindo a *formação* de um composto, o *KCl*, *molécula* osmoticamente ativa. A presença desse sal no vacúolo causa aumento da pressão osmótica, o que resulta no *fluxo de água das células adjacentes para o vacúolo das células-guarda, tornando-as túrgidas, promovendo a abertura estomática* (ou o aumento da *gs*).

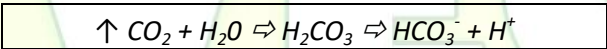
O acúmulo de 0,5 M de  $\text{K}^+$  no interior dos vacúolos provoca um aumento de  $\approx 2,0$  MPa na pressão osmótica das células-guarda. Em média, quando os estômatos encontram-se fechados, a concentração de  $\text{K}^+$  no vacúolo das células-guarda é de aproximadamente 100 mM. Essa concentração alcança valores de 400-800 mM quando os estômatos encontram-se bem abertos. A abertura matinal dos



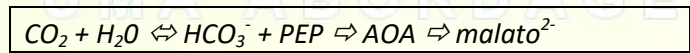
estômatos é possibilitada pelos eventos relatados acima. Todavia, *com o passar do dia*, a *contribuição do K<sup>+</sup>* para a manutenção da *abertura estomática* vai *diminuindo*, passando a *sacarose* a ser *responsável pela abertura estomática* da metade até o final da tarde. Essa *sacarose* é *proveniente da fotossíntese* que ocorre na própria *célula-guarda*.

Em plantas CAM (funcionando como CAM), os *estômatos* encontram-se *fechados durante o dia*, uma vez que as elevadas temperaturas, a baixa umidade relativa do ar e a baixa disponibilidade de água causariam sua completa desidratação. Nessas plantas, a *abertura estomática ocorre à noite* e, portanto, não há luz para estimular o processo. A abertura estomática nessas plantas ocorre de um modo específico, mas que se relaciona ao observado para plantas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> (que abrem seus estômatos durante o dia, na presença de luz, principalmente da radiação azul). O primeiro processo para que ocorra a entrada do K<sup>+</sup> nas células, como vimos, é o aumento do bombeamento dos átomos de H<sup>+</sup> para fora do citossol, pela ação da H<sup>+</sup>-ATPase. Ou seja, para que ocorra a abertura estomática o pH do citossol deve aumentar e é exatamente isso que acontece nas células-guarda das plantas CAM para que elas abram os seus estômatos à noite.

Mas de que forma isso ocorre? Como sabemos, em excesso, o CO<sub>2</sub> em meio líquido tende a acidificar a fase aquosa, o que ocorre pelo deslocamento da reação para a direita, conforme pode ser observado pela equação a seguir:



Como nas plantas CAM o CO<sub>2</sub> começa a ser incorporado à noite, sendo armazenado na forma de ácido málico no vacúolo, a quantidade desse gás dissolvido nas células-guarda diminui:

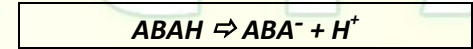


Esse acúmulo de ácido málico, resulta, indiretamente, em aumento no pH citossólico, mesmo sem o aumento no bombeamento de H<sup>+</sup> para fora do citossol. Como consequência, os canais de K<sup>+</sup> se abrem permitindo a entrada desse cátion, o que resultará na mesma cadeia de eventos descrita anteriormente para a abertura estomática em presença de luz.

#### Fechamento Estomático:

A cadeia de eventos que resulta no fechamento estomático ocorre, basicamente, de forma inversa à relatada para a sua abertura. O processo de fechamento estomático pode ocorrer de modo *hidropassivo*, pela própria desidratação das células-guarda na superfície das folhas, ou de modo *hidroativo*, o que ocorre com a participação de um hormônio vegetal denominado ácido abscísico (ABA). A origem do ABA é motivo de alguma controvérsia. Alguns autores consideram que o ABA que promove o fechamento estomático já se encontra presente nas folhas (nos estromas dos cloroplastos), enquanto outros consideram que ele é proveniente da coifa.

O ABA é sintetizado continuamente nos cloroplastos (nas folhas) na mesma via de síntese dos carotenóides, sendo derivado da *violaxantina*. O ABA é um ácido fraco que se dissocia em pH acima de 4,7 nas seguintes formas:



A forma *ABAH* caminha livremente através das membranas, enquanto a forma *ABA<sup>-</sup>* é “aprisionada” em compartimentos alcalinos. Em plantas mantidas sob boa disponibilidade de água, o pH do estroma encontra-se alcalino (pH ≈ 8,0), sendo superior ao pH do apoplasto, o que faz com que a maior parte de suas moléculas fiquem retidas nesse compartimento na forma *ABA<sup>-</sup>* que não consegue atravessar as membranas. Quando a planta é exposta a um estresse hídrico a fotossíntese cai, o que resulta no retorno de H<sup>+</sup> para o estroma, reduzindo o seu pH, fazendo com que o ABA passe para a forma *ABAH* (permeável às membranas). Nessa situação o pH do apoplasto encontra-se mais elevado, o que facilita a difusão do *ABAH* para esse ambiente. No apoplasto, o ABA pode se difundir até as células-guarda onde promove o efluxo do K<sup>+</sup> como veremos a seguir. Quando o ABA é proveniente na coifa, a chegada desse hormônio até as células-guarda ocorre através da seiva xilemática. Quando o potencial hídrico do solo encontra-se elevado, o pH da seiva xilemática fica mais ácido predominando a forma molecular (*ABAH*), o que possibilita uma maior distribuição e armazenamento desse fitormônio nos tecidos foliares em decorrência da sua permeabilidade. Quando a disponibilidade de água no solo é baixa, a solução xilemática fica menos ácida, havendo predomínio do ABA na sua forma dissociada (*ABA<sup>-</sup>*), que não consegue se difundir para o interior dos tecidos ao longo do trajeto, chegando em concentrações mais elevadas nas células-guarda, ocasionando o fechamento estomático. Aparentemente, a contribuição do ABA, proveniente da folha (contato

mais próximo com a atmosfera seca) ou proveniente da coifa (contato mais próximo com o solo secando), é somatória, o que aumenta a eficiência da sinalização para o fechamento estomático. O massivo efluxo de  $K^+$  dos vacúolos das células-guarda parece ser o principal evento que desencadeia o fechamento estomático. Esse processo é estimulado pelo ABA, como veremos a seguir.

Ao alcançar as células-guarda, o ABA é reconhecido por *proteínas receptoras específicas*, embora, até o momento, estas ainda não tenham sido identificadas. A primeira alteração detectável após a *exposição das células-guarda ao ABA* é a *despolarização transitória da membrana causada pelo influxo de cargas positivas* e o *aumento transitório de cálcio citossólico*. O ABA estimula o aumento da concentração citossólica do  $Ca^{2+}$  pela indução tanto do influxo através de canais na membrana plasmática quanto da liberação desse elemento de compartimentos de armazenamento, o que parece envolver a ação de radicais livres. As concentrações citossólicas de  $Ca^{2+}$  passam de 50 nM para 350-1100 nM (1,1 mM). Esse *aumento na concentração do  $Ca^{2+}$*  resulta na *abertura de canais de ânions*, que permitem que grandes quantidades de *Cl<sup>-</sup> e malato<sup>2-</sup>* saiam da célula, movendo-se ao longo de seu gradiente eletroquímico. O fluxo para o exterior desses ânions *gera uma forte despolarização da membrana*, desencadeando a *abertura de canais de efluxo de  $K^+$* . Além do aumento na concentração citossólica de  $Ca^{2+}$ , o ABA também promove a alcalinização do citossol de 7,67 para 7,94, tendo sido demonstrado que esse aumento ativa canais de membrana para efluxo de  $K^+$ . A *redução na concentração de KCl no vacúolo das células-guarda promove a perda de água e, conseqüentemente, o fechamento estomático* (ou diminuição da *gs*). A reabertura dos estômatos somente ocorre após a quebra (catabolismo) de todo o ABA presente na célula.

Outro fator que pode contribuir para a despolarização da membrana é a inibição da ativação  $H^+$ -ATPase. O ABA *inibe a ativação das bombas de prótons promovida por luz azul*, embora a sua ação não seja direta sobre a bomba. Aparentemente, os dois fatores que mais contribuem para a redução na atividade da  $H^+$ -ATPase são o aumento da concentração citossólica de  $Ca^{2+}$  e a alcalinização do citossol. Ambos são decorrentes da ação do ABA. Além de reduzir a perda de água por transpiração, o ABA ainda reduz o crescimento da parte aérea e aumenta o crescimento e a condutividade hidráulica das raízes em plantas submetidas a estresses hídricos, o que facilita a recuperação da planta nessas condições.



# LOGIA ETAL

PRÁTICA EM MULTIMÍDIA





## 5. TRANSPORTE E MOBILIZAÇÃO DE SOLUTOS E DOS ASSIMILADOS:

Os primeiros estudos relacionados ao transporte e mobilização de solutos e/ou assimilados em plantas foram realizados no século XVII pelo italiano Marcello Malpighi. Trabalhando com plantas de salgueiro, ele observou que quando um anel da casca era removido de um caule, os tecidos localizados acima do anelamento se dilatavam e, após algum tempo, a planta acabava morrendo. Experimentos modernos, empregando traçadores radioativos, explicaram esses resultados atribuídos ao movimento de substâncias transportadas no floema. Esses resultados estão diretamente relacionados à morfologia do floema e a algumas características do transporte dos solutos e assimilados nesse sistema de condução das plantas.

### **Morfologia e Composição da Seiva do Floema:**

Ao contrário do que acontece no xilema, em que o transporte de seiva ocorre de modo *passivo* (sem gasto de energia) utilizando a “energia” gerada pela transpiração (teoria tenso-coeso-transpiratória), o transporte no floema ocorre por meio de um *processo dependente de energia* (com gasto de energia em algum ponto do sistema). Os tecidos do *floema*, também ao contrário dos tecidos do xilema, são *fechados* e *vivos*, contendo *membranas*, *organelas* e outros *componentes citoplasmáticos*. Embora *algumas células* desse sistema *não apresentem núcleo* (elementos de tubos crivados), *divisões celulares* e *síntese protéica* são observadas nesses tecidos, o que se processa com a *participação* das *células companheiras* (em angiospermas) ou das células albuminosas (em gimnospermas). Nas gimnospermas, ao contrário do que se observa nas angiospermas, as placas crivadas não são morfologicamente diferenciadas das demais áreas crivadas.

Cada *elemento de tubo crivado* está associado a *uma ou mais células companheiras*. A origem dessas células é comum e da divisão de uma única célula-mãe formam-se o elemento de tubo crivado e a célula companheira. *Numerosos plasmodesmas* atravessam as paredes *entre os elementos de tubos crivados* e as suas *células companheiras*, indicando uma relação funcional estreita e a troca de solutos entre essas células. As células companheiras exercem a função de transporte de produtos fotossintéticos a partir das células produtoras nas folhas maduras para os elementos de tubos crivados nas nervuras menores das folhas. Elas apresentam cloroplastos com tilacóides bem desenvolvidos e uma parede celular com superfície interna lisa. Relativamente poucos plasmodesmas conectam

as células companheiras a qualquer outra célula adjacente, com exceção ao seu próprio elemento crivado, o que isola o simplasto dessas células das demais. *Existem pelo menos três tipos de células companheiras*: as células companheiras (*propriamente ditas*), as células *de transferência* (desenvolvem invaginações na parede) e as células *intermediárias*.

A composição da seiva nos dois sistemas de condução das plantas também é bastante diferente. No xilema, a seiva é bem menos concentrada em substâncias metabolizadas e muito pobre em açúcares e, embora apresente íons solubilizados, a sua pressão osmótica é menor do que a do floema. Isso se explica, principalmente, pela *elevada quantidade de açúcares* presentes na *seiva do floema*. Como consequência da *elevada pressão osmótica* da seiva do floema, ela encontra-se *sempre sob pressão positiva*, ao contrário da seiva do xilema que, na maior parte do tempo, encontra-se sob pressão negativa (tensão). A pressão no xilema somente é positiva sob condições que favoreçam a ocorrência de gutação, processo que apresenta exigências ambientais características e incomuns para sua realização.

A *manutenção da pressão positiva no floema é condição fundamental para o transporte da seiva*. Em função disso, em caso de ocorrência de danos que resultem em perda de pressão nos elementos de condução do floema, as placas crivadas mais próximas do local do dano são vedadas, num sistema análogo à coagulação sanguínea. Os *elementos crivados das angiospermas* são ricos em uma proteína denominada *proteína de precipitação* ou *proteína-P*, identificada inicialmente como *mucilagem* ou *tampão de mucilagem*. Essa proteína é encontrada em todas as eudicotiledôneas e em monocotiledôneas, mas está ausente nas gimnospermas. Ela ocorre em várias formas (tubular, fibrilar, granular e cristalina), dependendo da espécie e do estágio de desenvolvimento da célula. Quando há danos nos tecidos do floema a seiva é perdida através das placas crivadas. Todavia, as *proteínas-P* e *outras inclusões celulares ficam presas nos poros da placa*, promovendo a *vedação do elemento de tubo crivado, evitando a perda de pressão*. Uma *solução de longo prazo para os danos nos tubos crivados* é a *produção e deposição* nas placas crivadas de um polissacarídeo denominado *calose* ( $\beta$ -1,3-glucano). Essa substância é sintetizada pela enzima *calose sintase*, localizada na membrana plasmática, sendo depositada entre as membranas e a parede celular. A calose é sintetizada em um elemento de tubo crivado funcional em resposta às lesões e a outros tipos de estresses como, por exemplo, estímulo mecânico, temperaturas altas ou em resposta a eventos normais do desenvolvimento, como na dormência das plantas de clima temperado. Os depósitos de calose de lesão nos

poros da placa crivada isolam eficientemente os elementos crivados danificados do tecido intacto adjacente. À medida que os elementos crivados recuperam-se das lesões, a calose, por ação enzimática, desaparece desses poros.

A determinação da composição da seiva do floema pode ser obtida pela técnica conhecida como *técnica do rostro (estilete) seccionado de pulgões*. Os pulgões são insetos (afídios) que se alimentam inserindo seu aparelho bucal nas células do floema. Pela técnica, os pulgões são anestesiados com CO<sub>2</sub>, sendo o seu aparelho bucal (rostro) seccionado. A seiva pode ser facilmente coletada uma vez que a alta pressão de turgescência provoca a exsudação da seiva do floema através dos estiletos seccionados. A composição da seiva coletada é muito precisa. Como a exsudação pode se manter por bastante tempo (horas) após a excisão, é possível que alguma substância liberada pelos pulgões impeça ou retarde a “cicatrização” do vaso. Uma técnica alternativa e um pouco menos precisa de determinação da composição da seiva do floema é a coleta do *honey dew* (“gotas de mel”), que corresponde às gotículas liberadas através do aparelho digestório de pulgões que sugam a seiva do floema.

A água é a substância mais abundante transportada no floema. Dentre os solutos, as principais substâncias transportadas são a *sacarose*, *aminoácidos*, *hormônios*, *enzimas*, *ATP*, *vitaminas* e *alguns íons inorgânicos*. A sacarose é o principal carboidrato transportado no floema. Sua concentração pode alcançar valores entre 0,3 - 0,9 M (1 M de sacarose = 342 g L<sup>-1</sup>). A principal vantagem do transporte da sacarose em relação à glicose e à frutose é que a sacarose é um açúcar não-redutor. As porções redutoras nas moléculas correspondem aos grupos aldeído (no carbono 1) da glicose e da manose e aos grupos cetona (no carbono 2) da frutose, que nessas carboidratos encontram-se livres. Na sacarose, o grupo cetona ou aldeído é reduzido a um álcool ou combinado com um grupo semelhante em outro açúcar. A sacarose é menos reativa que glicose e frutose (açúcares redutores). Outros açúcares transportados no floema são derivados da sacarose (rafinose, estaquiase, verbascose). Açúcares-alcoóis translocados no floema incluem o manitol e o sorbitol.

O nitrogênio é encontrado no floema principalmente na forma de aminoácidos e amidas, em especial como glutamato e aspartato e nas suas respectivas aminas, glutamina e asparagina. Os níveis de compostos nitrogenados variam bastante, sendo, contudo, menores do que os dos carboidratos. Tipicamente, o nitrogênio encontrado no floema encontra-se na forma orgânica, enquanto que no xilema o predomínio é de nitrogênio na forma inorgânica.

Quase todos os *hormônios* endógenos das plantas incluindo as auxinas, giberelinas, citocininas e ácido abscísico são encontrados nos elementos crivados. Os nucleotídeos fosfato (ATP e outros) e as proteínas também são encontrados no floema. As proteínas encontradas no floema incluem as proteínas-P, as proteínas quinases (fosforilação de proteínas), a tioredoxina (redução de proteínas), a ubiquitina (degradação de proteínas), as chaperonas (dobramento de proteínas) e as inibidoras de proteases (proteínas de defesa contra predação por herbívoros e por insetos sugadores).

Os solutos inorgânicos que se movem no floema incluem o potássio, magnésio, fosfato e cloreto. Por outro lado, cálcio, boro, nitrato, enxofre e ferro são relativamente imóveis no floema. A tabela a seguir apresenta a composição do floema determinada em plantas de mamona (*Ricinus communis* L.).

Componente	Concentração (mg mL <sup>-1</sup> )
Açúcares	80,0-106,0
Aminoácidos	5,2
Ácidos orgânicos	2,0-3,2
Proteína	1,45-2,20
Potássio	2,3-4,4
Cloreto	0,355-0,675
Fosfato	0,350-0,550
Magnésio	0,109-0,122

#### Fontes e Drenos de assimilados:

Pelos menos três critérios podem ser adotados para a classificação dos órgãos vegetais com base nos conceitos de fontes e drenos de assimilados:

##### a) Critério de transporte:

Por esse critério, as fontes correspondem aos órgãos que exportam assimilados enquanto que os drenos correspondem aos órgãos que importam os assimilados. Pelo critério uma folha seria fonte ou dreno? E uma semente, o que seria? Vamos analisar o próximo critério antes de responder essa questão.

##### b) Critério morfológico:

Por esse critério, por exemplo, as folhas são consideradas fontes de assimilados enquanto que os demais órgãos seriam drenos. Então, as folhas



sempre são fontes e os demais órgãos sempre são drenos? A resposta para essa pergunta é não e, portanto, esse critério é falho.

c) *Critério metabólico:*

Em decorrência das dificuldades para caracterizar fontes e drenos de assimilados pelos critérios de transporte e morfológico, o *critério metabólico* passa a ser o mais adequado, uma vez que *considera efetivamente o momento metabólico do órgão* em questão. Por esse critério, as fontes correspondem a todos os órgãos que apresentam maior produção do que consumo de assimilados (fotossíntese maior que a respiração) ou àqueles órgãos que exportam assimilados (por mobilização de reservas). Por sua vez, os drenos correspondem aos órgãos que utilizam (respiração maior que a fotossíntese), armazenam ou importam assimilados. Portanto, uma folha nem sempre é fonte. Folhas jovens demais ou muito velhas são drenos, uma vez que consomem mais metabólitos por respiração do que os produzem pela fotossíntese. Nessa mesma linha de raciocínio, uma semente em formação é um dreno, mas quando essa semente germina e origina uma nova planta ela se comporta como uma fonte. O mesmo acontece com tubérculos de batata, por exemplo.

***Mecanismo de Transporte da Seiva no Floema:***

As primeiras explicações para o *transporte no floema* foram associadas à difusão. Todavia, essas hipóteses foram descartadas quando se tornou conhecido que as *velocidades para o transporte eram muito grandes*, algo inviável para que esse mecanismo (difusão) contribuísse para o transporte a longa distância nos tubos crivados. Atualmente, a explicação mais aceita para o transporte no floema ainda é a *hipótese do fluxo em massa* (fluxo por pressão) proposta pelo alemão Ernst Munch em 1930 e modificada por outros pesquisadores. Por essa hipótese, a *translocação no floema é explicada como um fluxo de solução* (fluxo em massa) *governado por um gradiente de pressão* (ou *pressão de turgescência*) gerado osmoticamente entre a fonte e o dreno.

*Transporte ativo x Transporte passivo:*

O *gradiente de pressão* é estabelecido como uma consequência do *carregamento do floema* nas fontes. Por exemplo, a *sacarose*, em função de seu *elevado tamanho molecular*, é *transportada ativamente* para dentro das *células do floema*, o que *resulta no aumento da pressão osmótica* nos elementos crivados da

fonte *reduzindo seu potencial hídrico*. Em resposta ao gradiente de potencial hídrico, a *água* das células de parênquima adjacentes *entra no tubo crivado aumentando sua pressão de turgescência*. Como resultado, a *seiva floemática é transportada por fluxo em massa de água e solutos em direção ao dreno através das placas crivadas*. *Nesse trajeto não é mais necessário o concurso de energia metabólica*. Nos drenos ocorre o *descarregamento do floema*, também envolvendo um *processo ativo, reduzindo a pressão osmótica e a pressão de turgescência*. O *potencial hídrico do floema aumenta* para valores maiores do que o potencial hídrico do xilema. Como consequência, ocorre *perda de água* (por osmose) das células do floema, que se movimenta em direção às células de parênquima adjacentes. Com isso, ocorre *decréscimo na pressão de turgescência dos elementos do floema nas células do dreno*. Em última análise, a *água utilizada na criação da pressão de turgescência é proveniente dos vasos do xilema, ou seja, em uma planta mantida sob condições de estresse hídrico, a velocidade e a quantidade de assimilados transportados no floema serão menores*.

Um exame cauteloso dos valores de potencial hídrico observados durante o transporte no *floema* mostra que a *água* nesse tecido é *movida contra o gradiente de potencial hídrico da fonte para o dreno*. Todavia, tal movimento da água *não transgride as Leis da Termodinâmica, pois a água move-se mais por fluxo em massa do que por osmose*. Assim, nenhuma membrana é transposta durante o transporte de um tubo crivado para outro e os solutos movem-se na mesma velocidade das moléculas de água. Sob tais condições, o potencial osmótico não pode contribuir para a força motriz do movimento da água, embora influencie o potencial hídrico. Em conclusão, a *translocação passiva da fonte para o dreno* (a distâncias longas), *impulsionada por pressão nos tubos crivados*, depende, em última instância, dos mecanismos de transporte ativos (de curta distância) envolvidos no carregamento e no descarregamento do floema. Tais mecanismos ativos são responsáveis pelo estabelecimento do gradiente de pressão.

O modelo hipotético utilizado para explicar o fluxo em massa no floema, segundo a proposta de Munch, pode ser montado com a utilização de dois osmômetros (sacos de diálise) interligados por um tubo em U. Num dos osmômetros é colocada sacarose e água enquanto que no outro é colocada apenas água. O sistema contendo os osmômetros é submerso em um recipiente contendo água, ocorrendo a entrada de água no saquinho que contém a sacarose. Consequentemente, ocorre o transporte da solução (por fluxo em massa) em direção ao outro saquinho, que, por sua vez, perde água para o recipiente externo.

De modo contrário ao que acontece nas plantas, quando a concentração de sacarose entre os dois saquinhos se iguala, o fluxo de solução entre eles paralisa. Na planta, o fluxo de assimilados das fontes em direção aos drenos é realizado durante o tempo todo através dos tecidos do floema, uma vez que sempre há carregamento e descarregamento do floema nas fontes e nos drenos.

Esse mecanismo teórico é o mais aceito para explicar a translocação da seiva no floema das angiospermas. Nas gimnospermas, pouca informação é disponível, sendo essas interpretações baseadas em eletromicrografias. As áreas crivadas nessas plantas são diferentes das observadas em angiospermas, sendo relativamente pouco especializadas. Elas, aparentemente, não apresentam poros abertos, o que é uma pressuposição fundamental para a aceitação da Teoria de Munch. Embora tais eletromicrografias possam ser artefatos e não a realidade dos tecidos intactos, a translocação em gimnospermas pode realmente envolver algum outro mecanismo, o que requer maiores investigações.

#### **Carregamento e Descarregamento do Floema:**

Várias etapas de transporte estão envolvidas no movimento dos fotoassimilados no mesófilo dos cloroplastos até os elementos crivados das folhas maduras, o que se denomina *carregamento do floema*. As trioses fosfato (3-PGA e DHAP) produzidas durante a fotossíntese são translocadas dos cloroplastos para o citosol, onde são convertidas em sacarose. À noite, os carbonos do amido primário armazenado deixam o cloroplasto, provavelmente na forma de glicose, sendo convertidos em sacarose e dessa forma para outros açúcares. A sacarose move-se do mesófilo para os elementos crivados adjacentes nas nervuras das folhas. Esta rota de curta distância normalmente corresponde ao diâmetro de duas ou três células. Em processo denominado carregamento dos elementos crivados, os açúcares são transportados para os elementos crivados e para as células companheiras. Na maioria das espécies estudadas, *os açúcares concentram-se mais nas células dos elementos crivados e das células companheiras do que nas células do mesófilo, o que caracteriza a ocorrência de transporte contra o gradiente de concentração e, portanto, o consumo de energia metabólica*. Em beterraba, o potencial osmótico das células do mesófilo é aproximadamente - 1,3 MPa e o potencial osmótico dos elementos crivados e das células companheiras é cerca de - 3,0 MPa. A dependência de consumo de energia metabólica (transporte ativo) para esse processo é evidenciada pela inibição do carregamento do floema em resposta à adição de inibidores respiratórios ou a temperaturas baixas. Em contraste, outros

metabólitos como os ácidos orgânicos e os hormônios entram passivamente nos elementos crivados.

Uma vez dentro dos elementos crivados, a sacarose e outros solutos são translocados para longe da fonte, em processo denominado *exportação*. A translocação por meio do sistema vascular para o dreno é referida como *transporte a longa distância*. *Os açúcares podem se mover das células do mesófilo para os elementos crivados através do simplasto (via plasmodesmas) ou podem passar para o apoplasto em pontos da rota do floema*. Nesse último caso, os açúcares são ativamente carregados do apoplasto para os elementos crivados e células companheiras por um transportador seletivo acionado por energia, estando esse translocador localizado nas membranas plasmáticas das células.

Na rota *apoplástica*, um *carregador de sacarose-H<sup>+</sup> do tipo simporte* parece ser o mediador do transporte de sacarose do apoplasto para o complexo elemento crivado-célula companheira. Evidências indicam que o *gradiente de prótons é a força motriz para o carregamento apoplástico da sacarose, o qual é gerado por uma bomba de prótons com consumo de ATP. A energia dissipada pelos prótons no movimento de retorno para a célula é usada para absorver o substrato, no caso a sacarose*. Tal fato é comprovado pela redução da quantidade de sacarose absorvida em resposta ao aumento do pH do apoplasto. As ATPases de bombeamento de prótons e os transportadores de sacarose-H<sup>+</sup> do tipo simporte são encontrados, preferencialmente, nas membranas plasmáticas dos elementos crivados do que nas membranas das células companheiras. Espécies com carregamento apoplástico do floema translocam quase que exclusivamente sacarose e apresentam quantidades reduzidas de conexões entre o complexo elemento crivado-célula companheira e as células adjacentes. Espécies herbáceas, tipicamente de clima tropical e subtropical, apresentam essas características. As espécies que apresentam carregamento simplástico do floema translocam oligossacarídeos (rafinose, estaquiose) além da sacarose e apresentam muitas conexões entre o complexo elemento crivado-célula companheira e as células adjacentes. Árvores, arbustos e trepadeiras, típicas de climas temperados e ambientes áridos possuem essas características. Existem exemplos de comportamento intermediários entre os dois tipos de carregamentos.

As substâncias transportadas no floema são descarregadas nos drenos para o seu armazenamento ou para o seu consumo. O descarregamento também pode ser realizado pelas rotas simplástica ou apoplástica. *Estudos com inibidores respiratórios têm demonstrado que a importação para os tecidos drenos também envolve gasto de energia*. As folhas em crescimento, as raízes e os tecidos de



reserva utilizam o descarregamento simplástico do floema. Os açúcares transportados são usados como substratos para a respiração e metabolizados em polímeros de reserva (amido, por exemplo) e em compostos necessários ao seu crescimento. O metabolismo da sacarose resulta em uma baixa concentração desse açúcar nas células dreno, mantendo, assim o gradiente de concentração para a absorção de mais açúcar. Durante a absorção de açúcares nas células dreno não ocorre o transporte pelas membranas e o descarregamento, através dos plasmodesmas, é passivo, pois os açúcares movem-se de uma alta concentração nos elementos de tubos crivados para uma baixa concentração nas células dos drenos. Portanto, o consumo de energia metabólica é necessário apenas para a respiração e para reações de biossíntese.

No descarregamento apoplástico do floema os açúcares devem cruzar pelo menos duas membranas: a membrana plasmática da célula que está exportando o açúcar e a membrana plasmática da célula do dreno. Quando os açúcares são transportados para o vacúolo eles devem atravessar também o tonoplasto. O transporte de macro-moléculas através das membranas geralmente é dependente de energia. Nas regiões dos drenos que apresentam crescimento vegetativo (meristemas), o descarregamento e o transporte para as células-drenos são simplásticos. Em outros tecidos-drenos, o descarregamento é apoplástico.

A regulação do desvio do carbono fixado em várias rotas metabólicas é denominada *alocação*. Os feixes vasculares em uma planta formam um sistema de tubos que podem direcionar o fluxo de fotoassimilados para vários tecidos drenos: folhas jovens, caules, raízes, frutos ou sementes. Entretanto, o sistema vascular é frequentemente muito interconectado, formando uma rede aberta, que permite a comunicação entre as folhas-fonte e os múltiplos drenos. A distribuição diferencial de fotoassimilados na planta entre os diferentes drenos é denominada *partição*. A *alocação* inclui a reserva, a utilização e o transporte do carbono fixado. O carbono fixado em uma célula-fonte pode ser usado para síntese de compostos de reserva (amido), para a utilização metabólica (necessidades energéticas) ou para a síntese dos compostos transportados.

Quanto maior a capacidade de um dreno em estocar ou metabolizar os açúcares importados durante o processo de alocação, maior será a sua capacidade de competir pelo assimilado que está sendo exportado. O processo de partição determina os padrões de crescimento na planta e tal crescimento deve ser equilibrado entre a parte aérea (produtividade fotossintética) e as raízes (absorção de água e nutrientes minerais). Os mensageiros químicos são importantes na

sinalização para o carregamento e descarregamento do floema nas fontes e nos drenos. O entendimento do processo de partição permite que os especialistas em melhoramento vegetal selecionem e desenvolvam variedades que apresentam maior taxa de transporte para as porções de interesse na planta. Os aumentos na taxa de fotossíntese nas folhas-fonte geralmente resultam em aumento na taxa de translocação a partir da fonte. Os pontos de controle para a alocação de fotoassimilados incluem a regeneração de intermediários do Ciclo C<sub>3</sub> (nos cloroplastos), a síntese do amido (nos cloroplastos) e a síntese de sacarose (no citossol).

#### **Medições das Forças das Fontes e dos Drenos de Assimilados:**

Diferentes experimentos indicam que a *intensidade de atividade* nas fontes e nos *drenos* de assimilados dependem tanto do *tamanho* e quanto da *atividade*. Nesse caso, a força da fonte (medida da produção/mobilização de assimilados) e a força do dreno (medida da utilização/armazenamento de assimilados) apresentam dois componentes: a *magnitude* (tamanho) e a *intensidade* (atividade). Portanto, para determinarmos as forças das fontes e dos drenos devemos considerar as seguintes equações:

Força da Fonte = tamanho x atividade	Força do Dreno= tamanho x atividade
Força da Fonte (g/dia) = Área foliar (dm <sup>2</sup> ) x TAL* (g/dm <sup>2</sup> /dia)	Força do Dreno (g/dia) = Peso do fruto (g) x TCR* (g/g/dia)
*TAL = Taxa assimilatória líquida	*TCR = Taxa de crescimento relativo

#### **Taxa de movimento de assimilados:**

A taxa de movimento de materiais nos elementos crivados pode ser expressa de duas maneiras: em função do volume de seiva translocada ou em termos da massa. Ambos levam em consideração a seção transversal do tubo. Em termos de fluxo de volume a unidade é  $m^3 m^{-2} h^{-1}$  e em fluxo de massa a unidade passa a ser  $g m^{-2} h^{-1}$ . Em termos gerais, a taxa de fluxo de massa pode variar de 1 - 15 g de carboidratos  $m^{-2} h^{-1}$ . A velocidade de fluxo varia bastante conforme a espécie, como pode ser observada na tabela a seguir:

Espécie	Velocidade (cm hora <sup>-1</sup> )
Cana-de-açúcar	84 – 270
soja	100
uva	60
beterraba	85 – 100

#### **Direção do Movimento de Assimilados:**

A direção do transporte sempre será da fonte em direção ao dreno. O movimento pode ser basípeto (do ápice para base), acrópetero (da base para o ápice) ou radial (lateral). O movimento de seiva no floema pode ser bidirecional, mas, nesse caso, será realizado através de diferentes tubos crivados.

#### **Evidências das Fontes e Drenos afetando a Translocação:**

As folhas apicais translocam mais para os ápices, enquanto as folhas basais translocam mais para as bases. As folhas intermediárias translocam tanto no sentido basípetero quanto no acrópetero. A remoção de uma folha (fonte) aumenta a atividade das folhas remanescentes. Em cana-de-açúcar, por exemplo, a formação de filhotes provoca maior translocação para esses drenos ativos (que não acumulam sacarose), reduzindo a produção. O mesmo ocorre com os “ramos-ladrão” de cafeeiro.

O poder de competição dos drenos está relacionado à taxa de fluxo e à direção do transporte. Durante o desenvolvimento das plantas ocorrem mudanças no poder de competição e na direção do transporte. Durante o crescimento vegetativo, as prioridades são para os meristemas radiculares e para os meristemas da parte aérea (incluindo o engrossamento nas angiospermas). Na época da reprodução, as flores, os frutos e as sementes passam a ser prioridade, reduzindo o crescimento vegetativo.

Um experimento desenvolvido por *Peel et al. (1970)* exemplifica bem o poder de competição dos órgãos e a força dos drenos. Eles utilizaram plantas de salgueiro para estudar esse fenômeno. Inicialmente, eles retiraram uma faixa de casca no caule da planta. De um dos lados eles colocaram uma colônia contendo poucos pulgões presa à planta. Do outro lado, eles colocaram uma colônia com um número muito maior de pulgões. Em seguida, eles forneceram <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> às plantas. Após algum tempo de fotossíntese e de translocação dos assimilados, eles mediram a radioatividade num mesmo número de pulgões das duas colônias. Após a análise,

eles verificaram que a *maior radioatividade foi encontrada nos pulgões da colônia grande*, o que os permitiu concluir que, na *colônia pequena*, os *fotoassimilados* eram *perdidos* (por esgotamento) durante o percurso. Por sua vez, na *colônia grande*, por esta corresponder a um *dreno forte*, ocorreu uma menor distribuição radial e uma maior taxa de absorção de assimilados. Como ressaltamos anteriormente, o tamanho e a atividade do dreno apresentam influência direta sobre a taxa e direção do fluxo de assimilados (diretamente proporcional). Em função disso, a força da colônia grande de pulgões se manifestou devido ao seu maior tamanho (número de indivíduos) e, conseqüentemente, à maior intensidade (atividade) de sucção da seiva do floema. Esses resultados explicam, por exemplo, o procedimento agrônomo conhecido como raleio ou desbaste de frutos, onde um grande número de frutos, ainda pequenos, é eliminado (raleados, desbatados) da planta, possibilitando que os frutos remanescentes cresçam bem mais do que eles cresceriam se todos os frutos fossem mantidos na planta. Ou seja, o *número de drenos é reduzido*, mas o “*tamanho*” da fonte de assimilados (quantidade de folhas) *é mantido*, o que *resulta numa menor partição de assimilados*.



## 6. NUTRIÇÃO E METABOLISMO MINERAL:

As plantas, além dos elementos gasosos obtidos da atmosfera, para a sua sobrevivência, também necessitam absorver água e elementos minerais provenientes do solo. Esses elementos, necessários às reações químicas que ocorrem nos vegetais, são retirados dos solos pelas raízes e distribuídos na planta através dos tecidos de condução. Depois de transportados na planta, os nutrientes podem ser utilizados na fotossíntese, na síntese de aminoácidos, de vitaminas, de enzimas e de outras substâncias. O solo não tem como função apenas fornecer elementos químicos necessários ao metabolismo vegetal. Ele também está envolvido na sustentação das plantas, no armazenamento de água, além de propiciar um ambiente gasoso conveniente para o desenvolvimento do sistema radicular. Os solos disponibilizam pelo menos três fatores fundamentais para o crescimento das plantas: a *estrutura*, proporcionada pelos diferentes constituintes físicos do solo (areia, silte e argila), a *água* e o *ar*. A capacidade de armazenamento de água no solo depende do tipo de solo (*argiloso ou arenoso*), das precipitações atmosféricas (*chuvas*) e/ou da frequência das regas (irrigações). Os solos *arenosos* apresentam *menor* capacidade de *retenção* de água, drenando mais rapidamente, enquanto que os solos *argilosos retêm mais* a água, *drenando menos*. A *matéria orgânica* contribui para a retenção de água, principalmente em solos arenosos. Para o crescimento das plantas sob cultivo agrícola os solos arenosos são melhores, desde que se tenha boa disponibilidade de água.

Os nutrientes inorgânicos utilizados pelas plantas têm origem na atmosfera e, principalmente, no intemperismo das rochas da crosta terrestre. Dois ou mais elementos químicos formam os minerais. A rocha é um agregado sólido que ocorre naturalmente, sendo constituído por um ou mais minerais ou mineraloides. A ação do *intemperismo* faz com que as rochas ígneas sejam decompostas liberando componentes solúveis e componentes insolúveis que podem ser transportados pelo vento ou pela água, formando depósitos em outros lugares, originando as rochas sedimentares. Já as rochas metamórficas se originam de outras rochas submetidas a grandes pressões e temperaturas.

O solo apresenta camadas verticais que variam na cor, na quantidade de matéria orgânica distribuída, na porosidade, na estrutura e na extensão do intemperismo. Essas camadas são conhecidas como *horizontes*. O horizonte *A* é a *camada mais superficial* onde há um *acúmulo de húmus* e onde ocorre maior *atividade física, química e biológica*. Nesse horizonte se encontram um grande

número de minhocas, insetos, artrópodes, protistas, nematóides e organismos decompositores como bactérias e fungos. O horizonte *B* contém *menos material orgânico* e não é tão atingido pelo intemperismo como o horizonte *A*. É tipicamente uma região de deposição. A água que penetra no solo pelo horizonte *A* carrega uma grande variedade de material orgânico para essa camada. O horizonte *C* é a *base do solo*, sendo composto por *rochas intemperizadas e minerais* a partir dos quais o verdadeiro solo dos horizontes superiores é formado.

Sob condições naturais, os elementos minerais é formados a partir do intemperismo das rochas. Esses elementos encontram-se presentes nos solos (na *solução do solo*) em diferentes concentrações. Todavia, diversos estudos evidenciaram que nem todo elemento encontrado no solo e/ou nos tecidos das plantas são essenciais ao seu metabolismo. Alguns elementos minerais encontrados nos tecidos vegetais são tóxicos, causando problemas para o metabolismo das plantas, o que evidencia uma seletividade relativamente baixa à entrada de elementos minerais através das raízes. Em decorrência disso, estudos realizados a partir da década de 50 resultaram no estabelecimento de *critérios* para a o estabelecimento da *essencialidade* dos elementos minerais para o metabolismo das plantas. Para que os elementos minerais considerados essenciais fossem incluídos nessa categoria, eles deveriam atender a três critérios (critérios indiretos de essencialidade). Segundo esses critérios:

- 1) *na ausência do elemento a planta não completa o seu ciclo de vida;*
- 2) *o elemento não pode ser substituído por nenhum outro;*
- 3) *o elemento deve ter um efeito direto na vida da planta e não exercer apenas o papel de, com a sua presença no meio, neutralizar efeitos físicos, químicos ou biológicos desfavoráveis para o vegetal.*

A *demonstração* da essencialidade dos elementos em obediência aos critérios indiretos foi realizada experimentalmente do seguinte modo:

- 1) Inicialmente a planta era cultivada em solução nutritiva **na presença ou na ausência** do elemento cuja essencialidade se procurava. Se a planta mostrava anormalidades visíveis e depois morria, o passo primeiro havia sido dado;
- 2) Então, se na falta do elemento em questão e na presença de outros elementos que apresentassem características químicas muito próximas, a planta também morresse, isto significava que ele não podia ser **substituído** por nenhum outro;
- 3) Finalmente, se o elemento em estudo, ausente da solução nutritiva, **fosse fornecido às folhas e com isso garantisse o crescimento normal da planta,**

ficava então evidenciado que ele **participava diretamente no metabolismo do vegetal**, não estando, com sua presença, apenas neutralizando condições desfavoráveis presentes, porventura, no sistema radicular, sendo, portanto, **essencial**.

Em função dessas observações, conclui-se que todo elemento essencial deve estar disponível para absorção pelas raízes (ou pelas folhas) das plantas, o que resulta na sua presença nos seus tecidos. Contudo, nem todo elemento mineral encontrado nos tecidos das plantas é essencial. A partir desses estudos iniciais relacionados à nutrição mineral, 13 elementos oriundos do solo são, até o momento, considerados essenciais (excluem-se os elementos provenientes da água, do oxigênio e do gás carbônico). Esses elementos foram agrupados em duas classes: os *macronutrientes* e os *micronutrientes*. Essa separação considera critérios quantitativos. Os *macronutrientes* são *necessários em maior quantidade e também encontrados em maior quantidade nos tecidos das plantas*. Em contraste, os *micronutrientes* são *necessários em menor quantidade e também encontrados em menor quantidade nos tecidos das plantas*. As tabelas a seguir apresentam os elementos minerais essenciais (macro e micronutrientes), a forma iônica absorvida, algumas das suas funções metabólicas e alguns dos compostos que apresentam esses elementos em sua molécula.

#### Macronutrientes:

Elemento	Principal forma na qual o elemento é absorvido:	Concentração usual nos tecidos (%)	Principais funções ou compostos que apresentam o elemento em sua estrutura
<b>Nitrogênio</b>	$\text{NO}_3^-$ ou $\text{NH}_4^+$	± 1-4	Componente de aminoácidos, proteínas, nucleotídeos, ácidos nucléicos, clorofilas e coenzimas.
<b>Fósforo</b>	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ou $\text{HPO}_4^{2-}$	0,1-0,8	Armazenamento e transferência de energia (ATP e ADP), componentes de compostos fosfatados ácidos nucléicos, coenzimas e fosfolipídios.
<b>Potássio</b>	$\text{K}^+$	0,5-6	Predomina na forma iônica. Envolvido na osmose e no balanço iônico, na abertura e fechamento estomático e em alguns movimentos násticos; ativador enzimático, síntese e estabilidade de proteínas.
<b>Cálcio</b>	$\text{Ca}^{2+}$	0,2-3,5	Ativação e regulação enzimática (mensageiro

			secundário), componente da parede celular (pectato de cálcio, fitato), armazenamento (carbonato, oxalato), permeabilidade de membranas; componente da calmodulina.
<b>Magnésio</b>	$\text{Mg}^{2+}$	0,1-0,8	Ativação enzimática, estabilidade de ribossomos, parte importante da molécula de clorofila.
<b>Enxofre</b>	$\text{SO}_4^{2-}$	0,05-1	Grupo ativo de proteínas, enzimas e da coenzima A, componente de aminoácidos (cisteína, cistina, metionina).

#### Micronutrientes:

Elemento	Principal forma na qual o elemento é absorvido:	Concentração usual nos tecidos (ppm)	Principais funções ou compostos que apresentam o elemento em sua estrutura
<b>Ferro</b>	$\text{Fe}^{2+}$ ou $\text{Fe}^{3+}$	25-300	Necessário à síntese da clorofila; grupo ativo em enzimas e em transportadores de elétrons (citocromos e ferredoxina), componente de enzimas (catalase, peroxidase, redutase do nitrato, nitrogenase, redutase de sulfito).
<b>Cloro</b>	$\text{Cl}^-$	100-10.000	Envolvido na osmose e no balanço iônico; provavelmente essencial para as reações fotossintéticas que produzem oxigênio (complexo de evolução do oxigênio); envolvido na abertura e no fechamento estomático.
<b>Cobre</b>	$\text{Cu}^{2+}$	4-30	Ativador ou componente de algumas enzimas (polifenoloxidase, SOD), componente da fotossíntese (plastocianina).
<b>Manganês</b>	$\text{Mn}^{2+}$	15-800	Fotossíntese (complexo de evolução do oxigênio); necessário à integridade dos cloroplastos; metabolismo de ácidos orgânicos; componente de enzimas (SOD).
<b>Zinco</b>	$\text{Zn}^{2+}$	15-100	Ativador ou componente de muitas enzimas (anidrase carbônica, aldolase, SOD).



<b>Molibdênio</b>	$\text{MoO}_4^{2-}$	0,1-0,5	Metabolismo do nitrogênio: necessário para o processo de fixação biológica do nitrogênio (nitrogenase) e ao processo de redução do nitrato (redutase do nitrato).
<b>Boro</b>	$\text{B(OH)}_3$ ou $\text{B(OH)}_4^-$	5-75	Influência na utilização do $\text{Ca}^{2+}$ , na síntese de ácidos nucleicos e na integridade de membranas e no transporte de carboidratos.
<b>Cobalto*</b>	$\text{Co}^{2+}$	Traço	Necessário aos organismos fixadores de nitrogênio.
<b>Sódio*</b>	$\text{Na}^{2+}$	Traço	Não essencial para a maioria das plantas, sendo tóxico para muitas espécies. Envolvido no balanço iônico e osmótico em plantas de desertos e de mangues; necessário para todas as $\text{C}_4$ (embora a deficiência de $\text{Na}^{2+}$ seja rara).
<b>Níquel *</b>	$\text{Ni}^{2+}$	Traço	Componente da enzima Urease

\*Essencial somente para algumas espécies.

A ausência desses elementos pode ocasionar *deficiências nutricionais*, cujos sintomas são bastante variáveis, desde crescimento reduzido dos ramos e folhas até a clorose (folhas amarelas devido à perda ou redução da clorofila) ou necrose (morte localizada dos tecidos). Os sintomas de deficiência dependem não apenas do papel exercido pelo elemento na planta, mas, também, da sua mobilidade no floema. Por exemplo, no caso da deficiência de magnésio, cuja presença é fundamental para as moléculas da clorofila, as folhas mais jovens são capazes de receber o magnésio das folhas mais velhas, sendo esse elemento transportado pelo floema. Quando o elemento químico possui mobilidade no floema (floema-móvel) os sintomas da sua deficiência ocorrem *primeiro* nas partes velhas (folhas) das plantas. Outros exemplos de elementos móveis no floema incluem o fósforo, o potássio e o nitrogênio. Em contraste, alguns elementos apresentam baixa mobilidade nesse tecido de condução (ferro, manganês, zinco, cobre e molibdênio), existindo, ainda, aqueles elementos que são imóveis no floema, como o cálcio e o boro. Os sintomas de deficiência nutricional desses elementos aparecem *primeiro* nas partes novas (meristemas) das plantas.

#### Fertilidade do Solo:

Antes do plantio de qualquer espécie vegetal, deve-se realizar uma *análise*

*do solo*. Essa análise deve abranger toda a área a ser plantada e levar em conta as características do terreno, como declividade (plano, inclinado), a coloração (claro, escuro ou intermediário), a umidade (terra firme ou várzea) e a textura (arenoso ou argiloso), dentre outros. Após a coleta das sub-amostras (20x20x20 cm), uma amostra composta de aproximadamente 1 kg deve ser preparada e encaminhada para Laboratórios de Análise de Solos, geralmente localizados em Universidades agrícolas e nos Órgãos Governamentais relacionados à Agropecuária. Após a definição da(s) espécie(s) que a ser(ão) cultivada(s) na(s) área(s) e de posse da(s) análise(s) do solo, os primeiros passos são a avaliação da fertilidade (quantidade de alguns nutrientes e a CTC), da acidez e a da presença de alumínio tóxico. Quando os solos são ácidos e, principalmente, sendo detectada a presença de alumínio tóxico, deverá ser realizada a *calagem*, processo que consiste na *aplicação de calcário* (calcítico ou dolomítico), procedimento realizado pelo menos dois meses antes do plantio. Em *função dos resultados da análise do solo* e sendo constatada a necessidade de correção do solo, *durante o plantio* deverá ser realizada a *adubação corretiva*, considerando as quantidades dos elementos existentes no solo e a cultura a ser estabelecida. A calagem tem por objetivos aumentar o pH do solo, que, por sua vez, interfere sobre a solubilidade dos elementos essenciais e, promover a imobilização da principal forma tóxica do alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ), que se precipita na forma de hidróxido de alumínio [ $\text{Al(OH)}_3$ ], uma forma insolúvel e que, portanto, não causa toxicidade para o sistema radicular.

Um dos principais indicadores da fertilidade fornecido pela análise de solo é a *capacidade de troca de cátions*, conhecida pela sigla CTC. A CTC é o parâmetro mais importante da fertilidade do solo. Como no solo são encontrados tanto cátions quanto ânions, na verdade, o solo apresenta *capacidade de troca de íons* (CTI). Todavia, como a maioria dos metais do solo forma íons positivos (cátions) e como esses cátions se ligam (adsorvem) mais facilmente às partículas de *argila*, que *predominantemente* são *carregadas com cargas negativas*, o conceito de CTC é mais importante. A adsorção iônica é fundamental, pois os cátions ficam retidos às partículas do solo, evitando assim a sua *lixiviação*. Em contraste, os *ânions*, com exceção do fosfato que forma precipitados insolúveis no solo, são mais facilmente perdidos por *lixiviação*, uma vez que eles são "*repelidos*" pelas cargas negativas presentes nas partículas de argila, sendo conduzidos até o lençol freático, podendo provocar a poluição de cursos e de reservatórios de água. A origem das cargas negativas na superfície das partículas de argila é a *substituição isomórfica* do  $\text{Al}^{3+}$  e do  $\text{Si}^{4+}$  (alumino-silicatos). Os cátions adsorvidos às partículas de argila são trocados

por outros cátions mantidos na *solução do solo* ou na *superfície das raízes*, que também apresentam predominantemente cargas negativas em decorrência da dissociação do  $H^+$  dos ácidos carboxílicos e de compostos fenólicos das microfibrilas de celulose, tornando-se disponíveis para o crescimento das plantas. Esse processo envolve troca catiônica e, portanto, a CTC realmente reflete o grau de fertilidade do solo.

A origem principal de todos os elementos do solo são as rochas. Pela ação do intemperismo, as rochas liberam lentamente os elementos minerais para a solução do solo, onde esses ficam adsorvidos às partículas de argila. Nos cultivos intensivos (agricultura comercial), a quantidade e a velocidade de extração dos nutrientes são maiores do que a de reposição pela ação natural do intemperismo, tornando necessárias adubações corretivas periódicas, realizadas a cada novo plantio. Outra consequência da utilização intensiva do solo é a sua acidificação, decorrente das trocas entre os cátions das superfícies das argilas (CTC) e os  $H^+$  das superfícies das raízes, da respiração radicular ( $CO_2$  acidifica a fase aquosa), das chuvas e da decomposição da matéria orgânica (também libera  $CO_2$  e  $NH_3$ , que podem gerar ácidos fortes, como o ácido nítrico). Embora o pH de um solo possa variar, algumas plantas apresentam uma faixa estreita de tolerância. A acidificação pode resultar na redução da solubilidade de diversos elementos essenciais e, em contraste, na solubilização do alumínio, que passa da forma insolúvel  $[Al(OH)_3]$  para a sua forma solúvel e tóxica ( $Al^{3+}$ ). Em decorrência disso, a realização de uma nova calagem, torna-se necessária, sendo esta realizada em intervalos de 2, 3 ou 4 anos, dependendo da intensidade de cultivo do solo.

A adubação orgânica é uma alternativa à adubação química, uma vez que a adição de restos de cultura, esterco e húmus pode efetivamente suprir as necessidades nutricionais das plantas. Além de melhorar a estrutura e, conseqüentemente, a capacidade de retenção de água do solo, a adubação orgânica pode fornecer os elementos essenciais às plantas. Todavia, para que a matéria orgânica possa efetivamente contribuir como fonte de nutrientes para o solo é necessário que ela seja **decomposta** e **mineralizada**, o que ocorre com a participação de diversos microorganismos do solo. É exatamente por esse motivo que uma queimada aumenta a fertilidade do solo, uma vez que ela acelera a velocidade de degradação da matéria orgânica, transformando-a em cinzas e promovendo a sua rápida mineralização. As *queimadas* são *processos importantes em ecossistemas naturais, aumentando a velocidade de ciclagem dos nutrientes*. Todavia, quando realizada de modo intensivo, as queimadas levam ao

empobrecimento dos solos, uma vez que elas volatilizam alguns nutrientes, além de eliminar microorganismos e promover a erosão do solo. É em decorrência do aumento inicial na produtividade (pela mineralização da matéria orgânica) que muitos agricultores apostam nessa “técnica” de preparo do solo para o plantio, efetuando repetidas queimadas e, a cada uma delas, não entendendo as causas da redução na produtividade da área e do empobrecimento progressivo do solo.

As *micorrizas* são *associações simbióticas* entre as *raízes* das plantas e determinadas *espécies de fungos*. Existem dois tipos de micorrizas: as *endomycorrizas* (colonizam o interior das raízes, principalmente o córtex; são conhecidas como micorrizas vesículo-arbusculares = VAM) e as *ectomicorrizas* (somente se associam à superfície externa das raízes). As micorrizas têm um importante papel na absorção de água e de alguns nutrientes, principalmente do fósforo, e de micronutrientes como o manganês, o cobre e o zinco. A ação das micorrizas sobre o aumento da absorção do fósforo está relacionada à presença de *fosfatases*, enzimas que aumentam a solubilidade desse elemento, que normalmente encontra-se insolúvel no solo, dificultando a sua absorção.

Como resultado da CTC observada entre as plantas e os solos, a *fitorremediação* vem sendo empregada com o objetivo de se eliminar elementos minerais tóxicos do solo utilizando-se o plantio de espécies tolerantes (*hiperacumuladoras*) ou não tolerantes ao poluente. Pela técnica, grandes extensões de área podem ser “remediadas” ou limpas de determinados elementos tóxicos (matéria orgânica em ambientes aquáticos, íons metálicos, metais pesados, elementos radioativos, etc.). As espécies escolhidas são plantadas e cultivadas na área contaminada e, em função da absorção radicular ou foliar (plantas aquáticas), são capazes de eliminar total ou parcialmente o elemento do ambiente, “sequestrando” o mesmo em seus tecidos. Posteriormente, as plantas são colhidas/coletadas e, então, incineradas sob condições controladas, aumentando a eficiência de “limpeza” da substância poluidora do ambiente. Três exemplos importantes nessa linha de estudos podem ser destacados: a utilização do aguapé como filtros biológico na Lagoa da Pampulha, em Belo Horizonte (o aguapé se tornou uma praga pelo excesso de esgoto - matéria orgânica - lançado na Lagoa); a fitorremediação para eliminação do Agente Laranja no Vietnã; e a fitorremediação para elementos radioativos liberados no acidente nuclear de Chernobyl.



### Movimento dos Íons entre o Solo e as Raízes:

A absorção iônica está intimamente relacionada à absorção de água, sendo esses eventos paralelos. Para serem absorvidos, os íons devem, obrigatoriamente, em uma forma solúvel em água. Em função disso, as rotas através das raízes pelas quais os íons se movimentam até serem efetivamente absorvidos são as mesmas que a água percorre: o *apoplasto* e o *simplasto*. O *apoplasto* (ou Espaço Livre Aparente = ELA) consiste em um sistema interconectado de paredes celulares e espaços intercelulares que permitem o livre movimento de água e solutos (íons), correspondendo de 10-15% do volume das raízes. O ELA compreende a região do córtex da raiz, desde a epiderme até endoderme (faixa de Caspari). Nesse ambiente, o movimento da solução ( $H_2O$  + íons) é passivo (sem gasto de energia). Enquanto se encontra no ELA, o elemento não foi efetivamente absorvido. O outro caminho possível, o *simplasto*, corresponde ao “*continuum citoplasmático*”, que existe graças à presença dos plasmodesmas, estruturas que permitem a interconexão entre células adjacentes. Para que um elemento seja realmente absorvido (entre no simplasma), é necessário o gasto de energia (pelo menos para os ânions). Essas duas rotas de entrada não são exclusivas. Provavelmente, os elementos se movimentam até certa distância através do apoplasto (maior facilidade) até um “sítio de absorção”, onde o mesmo entra no simplasto.

A absorção dos íons pelos tecidos das raízes exige o gasto de energia. Em decorrência da predominância de *cargas negativas no citossol* (resultante do potencial de membrana gerado pela ação das  $H^+$ -ATPase), a absorção dos *ânions* ocorre através de *mecanismos ativos* (com gasto de energia), uma vez que eles são transportados contra o gradiente de cargas. Após a absorção dos ânions por transporte ativo, os *cátions* são absorvidos por *transporte passivo*, todavia *dependente de energia*, o que ocorre em resposta ao *balanço elétrico de cargas* no citossol. Como os ânions e os cátions são armazenados no vacúolo das células de parênquima localizadas nas raízes (ao redor dos tecidos de condução), a *pressão osmótica* nesses tecidos aumenta, fazendo com que ocorra *fluxo de água do solo para as raízes*. Essa sequência de eventos é responsável pela absorção de água pelas plantas e pode resultar no fenômeno da gutação (pressão radicular). Todavia, sabe-se que a gutação apresenta reduzida contribuição para o transporte de íons (e de água) em plantas de porte elevado, sendo a transpiração o principal mecanismo de transporte da água e, conseqüentemente, dos íons nela solubilizados.

Duas hipóteses são aceitas para explicar o transporte ativo dos ânions através das raízes. Elas envolvem a contribuição de uma ou de duas bombas (proteínas de membrana transportadoras de ânions com gasto de ATP):

- Hipótese da bomba estelar*: por essa hipótese, existe uma única bomba nas células do estelo; ela bombeia ânions para as células do parênquima do xilema que, por sua vez, têm função de acumular os íons e de secretá-los nos vasos do xilema.
- Hipótese das duas bombas*: por essa hipótese duas bombas operariam radialmente no simplasma: uma nas células corticais e, a outra, nas células do parênquima do xilema.

Aparentemente, o funcionamento dessas bombas é controlado por um “sistema do tipo retroalimentador negativo”, mantido sob controle hormonal, que pode “desligar” a(s) bomba(s) iônica(s) em caso de excesso de nutrientes no meio. Todavia, a seletividade e o controle do “desligamento” dessas bombas não são muito precisos e tampouco eficientes. Como consequência, verifica-se a intoxicação e/ou morte das plantas em decorrência da absorção excessiva de elementos essenciais, principalmente de micronutrientes, assim como em resposta à absorção de elementos minerais tóxicos (não essenciais).

### Mecanismos de Ascensão da Seiva Xilemática:

Os elementos minerais, absorvidos com gasto de energia (ânions) ou na dependência dela (cátions), solubilizados em água (absorvida por osmose), são secretados (descarregados) nos vasos do xilema. A endoderme se encarrega de evitar que a seiva xilemática retorne pela ação da gravidade e extravase para o solo através das raízes. Essa seiva, contendo água, sais minerais e as demais substâncias metabolizadas produzidas nas raízes, é transportada para a parte aérea através do xilema. Esse transporte pode ocorrer com a contribuição de diferentes mecanismos:

#### a) *Corrente transpiratória*:

Representa o principal mecanismo de transporte dos elementos minerais e da água (de toda a seiva xilemática) para a parte aérea. Depende diretamente da taxa de transpiração (fluxo em massa), o que está relacionado à disponibilidade de água no solo e à umidade relativa do ar, componentes que afetam diretamente a abertura estomática. Normalmente, esse transporte no xilema ocorre sob pressão negativa.

#### b) Pressão radicular:

Em decorrência do acúmulo dos íons nas raízes (nas células de parênquima dos tecidos de condução) e da consequente absorção de água (por osmose), existe a possibilidade de que a seiva xilemática seja transportada por *pressão positiva*, gerada nas células das raízes, o que resulta no fenômeno da gutação. Todavia, como ressaltamos, a ocorrência desse fenômeno se limita à altura de aproximadamente 10 m, além de exigir elevada disponibilidade de água no solo, temperatura amena e elevada umidade relativa do ar. Sob condições de elevada  $UR_{ar}$ , a transpiração é reduzida, passando a gutação a ser importante para o transporte para a parte aérea dos elementos que não são solúveis (não retranslocam) no floema, como o cálcio e o boro.

#### c) Trocas iônicas:

Outro mecanismo de transporte envolve trocas iônicas que podem ocorrer em decorrência do fenômeno da adsorção da água e dos elementos solúveis na seiva xilemática às paredes dos vasos do xilema. As paredes dos vasos e dos traqueídeos possuem carga fixas predominantemente negativas, que apresentam maior afinidade por cátions. Quanto maior a carga do cátion, maior será a sua adsorção às cargas das paredes dos vasos (monovalentes < divalentes < trivalentes).

#### d) Transferência lateral de íons:

A transferência lateral de íons para os elementos do floema também é possível com a participação das *células de transferência*, o que permite a redistribuição dos íons solúveis via floema através da planta.

#### Redistribuição dos íons no Floema:

A redistribuição dos íons no floema é um mecanismo que permite o transporte dos elementos em todas as direções na planta. Todavia, como ressaltado anteriormente, nem todos os elementos essenciais ao metabolismo das plantas são móveis na seiva do floema. Em função do pH e da concentração da sua seiva, alguns elementos apresentam baixa solubilidade no floema enquanto outros são quase que completamente imóveis nesse sistema de condução. Quando o elemento químico possui mobilidade no floema (floema-móvel), os sintomas da sua deficiência ocorrem *primeiro* nas partes mais velhas (folhas) da planta, uma vez que esse elemento pode ser desmobilizado dessas porções e transportado, através do floema, para as regiões de crescimento. Como exemplos de elementos móveis no floema destacam-se o nitrogênio, o fósforo, o potássio e o nitrogênio. Por sua vez, o ferro, o manganês, o zinco, o cobre e o molibdênio apresentam baixa mobilidade no

floema. No extremo contrário aos elementos móveis no floema, estão o cálcio e o boro, que quase não se movimentam no floema. O cálcio forma complexos insolúveis na seiva do floema, precipitando na forma de  $Ca(OH)_2$  ou de  $Ca(PO_4)_2$ . O boro forma complexos do tipo *cis-diol*, moléculas que também são insolúveis no floema. Em decorrência dessa baixa mobilidade, os sintomas de deficiência nutricional desses elementos aparecem *primeiro* nas partes novas (meristemas) das plantas, uma vez que o solo ou a solução nutritiva não os possuem em concentração suficiente e os mesmos não podem ser transportados das partes mais velhas das plantas. Em função disso, os meristemas ficam deficientes nesses elementos o que, em decorrência de suas participações na estrutura, na integridade das membranas e na composição da parede, resulta na ocorrência de necroses e de morte de brotos apicais (*die back*).

#### Uso de Soluções Nutritivas em Estudos de Nutrição Mineral:

A maioria dos estudos relacionados à nutrição mineral de plantas e ao estabelecimento da essencialidade dos elementos no metabolismo das plantas foi realizada com a utilização de sistemas de cultivos em soluções nutritivas. As formulações das soluções nutritivas mais antigas e ainda bastante utilizadas são as de Hoagland & Arnon (1933), de Clark (1990) e de Long Ashton.

As principais vantagens da utilização desses sistemas são a definição prévia e a precisão da composição do meio, além de os sistemas radiculares das plantas poderem ser mais facilmente retirados para análises, o que é dificultado ou não é possível quando as plantas são cultivadas no solo. Todavia, esse sistema também apresenta desvantagens, uma vez que as plantas requerem maiores cuidados, além de o mesmo ser relativamente artificial. Para se realizarem estudos envolvendo a nutrição mineral utilizando soluções nutritivas, algumas características específicas devem ser consideradas e determinados cuidados adicionais devem ser adotados:

##### 1) Recipientes:

Os recipientes devem ser de vidro (Pyrex®) ou de polivinil carbonato (PVC). O PVC é mais barato e vem sendo bastante utilizado. Esses recipientes são menos reativos embora também possam interferir pela liberação de micronutrientes ou pela adsorção de elementos da solução às suas paredes. Vidros de boro-silicatos devem ser evitados, pois liberam micronutrientes, especialmente o boro.

##### 2) Água:

A água deve ser destilada e desmineralizada, pois os microorganismos e os nutrientes presentes interferem nos resultados.



### 3) Sais minerais:

Os sais minerais devem ser de alta pureza (P.A.), evitando-se assim a presença de íons contaminantes.

### 4) Aeração:

Quando a espécie estudada não é aquática ou tolerante ao alagamento a aeração é obrigatória para se evitar a fermentação.

### 5) Suporte para as plantas:

Quando a espécie estudada não é aquática (flutuante ou subaquática), para que as plantas não afundem na solução deve ser utilizado algum tipo de suporte, como o poliestireno expandindo (Isopor®) ou cortiças.

### 6) Iluminação, Temperatura e Umidade Relativa do Ar:

Quando o cultivo é realizado no interior de laboratórios torna-se necessário o fornecimento de iluminação artificial, que deve estar na faixa de radiação fotossinteticamente ativa (50-2000  $\mu\text{moles RFA m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). A radiação é obtida com a utilização de lâmpadas fluorescentes dos tipos luz do dia, branca-fria ou *grow-lux* ou com lâmpadas de vapor de sódio, mercúrio, xenon ou alógenas. O fotoperíodo, a temperatura e a URar devem ser ajustados para a espécie em estudo.

Alguns cuidados também são necessários para a condução das plantas em solução nutritiva. O primeiro deles está relacionado ao preparo das soluções estoques e da própria solução nutritiva. Cuidados com a compatibilidade e diluição também devem ser considerados. As plantas devem ser selecionadas e uniformizadas. O pH deve estar entre 4 e 8, sendo a faixa de máxima absorção iônica localizada entre 5 e 7. A relação  $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$  deve ser de 8:1, pois permite que o pH fique relativamente constante (excesso de  $\text{NH}_4^+$  resulta em acidificação muito rápida da solução exigindo correções constantes no pH). A concentração de fósforo deve ser equilibrada, uma vez que o seu excesso causa incompatibilidade, que resulta em precipitação de sais e em toxidez. O ferro deve ser fornecido ligado a um agente quelante, como o EDTA ou EGTA, moléculas que formam complexos solúveis e evitam a sua precipitação na forma de hidróxido de ferro ( $\text{Fe}^{3+} + 3 \text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3$ ).

Como consequências dos estudos de cultivo em solução nutritiva foram desenvolvidas técnicas agronômicas que permitem o cultivo de hortaliças e a produção de frutos em *sistemas "sem solo"*. Ainda, existem algumas diferenças básicas entre as soluções nutritivas e esses sistemas, principalmente relacionadas à qualidade da água e dos sais minerais, que normalmente não são puros, empregando-se na formulação das soluções, na maioria das vezes, adubos e água

não deionizada. Os principais tipos de cultivo sem solo são a *hidroponia* e a *aeroponia*. Na hidroponia, as plantas são cultivadas com suas raízes mergulhadas em solução nutritiva (em estado líquido), o que ocorre de forma contínua ou quase continuamente (lâmina de imersão). Na aeroponia, a solução é aplicada na forma de névoa e as raízes das plantas não entram em contato com a solução nutritiva no estado líquido. A hidroponia é o tipo mais comum de cultivo sem solo e vem sendo empregada (em termos comerciais) para a produção de diferentes espécies vegetais, principalmente para hortaliças como a alface, cebolinha, salsa, rúcula, etc. A principal vantagem dessa técnica é que as plantas não entram em contato com o solo, fonte de grande número de fitopatógenos, principalmente fungos e bactérias, que reduzem a sua qualidade. Ainda, essa técnica de cultivo pode trazer alguns problemas. Como as plantas não apresentam um controle muito rigoroso da quantidade de nutrientes absorvidos, o preparo das soluções nutritivas com concentração excessiva de íons resulta em crescimento intenso e mais rápido das plantas. Ainda, pode ocorrer um acúmulo excessivo de determinados elementos nos seus tecidos. Alguns elementos, em excesso, podem ser tóxicos para humanos, causando problemas de saúde. O nitrogênio, em excesso, nas formas de  $\text{NO}_2^-$  e/ou  $\text{NO}_3^-$ , pode causar uma doença em humanos conhecida como *metemoglobinemia*. Essa doença é uma forma grave de anemia causada pela redução, no fígado, do  $\text{NO}_3^-$  à  $\text{NO}_2^-$ . Esse, por sua vez, se combina com a hemoglobina, dificultando, por competição, a ligação do oxigênio à molécula provocando distúrbios metabólicos, o que demonstra a necessidade de controle rigoroso da concentração de elementos na solução nutritiva a fim de se evitar problemas.

### Ciclos dos Nutrientes:

Os elementos essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas vasculares estão disponíveis em um suprimento limitado, uma vez que o Planeta Terra é um sistema fechado. Os macro e os micronutrientes são constantemente reciclados através da decomposição da matéria orgânica proveniente dos corpos das plantas e de animais mortos, retornando ao solo, sendo absorvidos novamente pelas plantas. Cada elemento apresenta um ciclo característico envolvendo a participação de muitos organismos e de sistemas enzimáticos. Alguns ciclos são globais (envolvem elementos que apresentam a forma gasosa), enquanto outros, que envolvem elementos não gasosos, são de natureza mais localizada. Por englobarem tanto organismos vivos quanto o ambiente físico, estes ciclos também

são chamados *ciclos biogeoquímicos*. Nem todos os nutrientes retornam ao solo e ficam disponíveis para o uso vegetal. Alguns se perdem no sistema.

### **Nitrogênio e o Ciclo do Nitrogênio:**

O nitrogênio é o macronutriente encontrado em maior quantidade nos tecidos das plantas. A atmosfera terrestre é um grande reservatório de nitrogênio, mas apesar de ser composta por aproximadamente 78% de  $N_2$ , a maioria dos seres vivos não tem a capacidade de usá-lo diretamente para produzir aminoácidos (proteínas) e outras substâncias orgânicas, necessitando de compostos mais reativos como o amônio e o nitrato, presentes no solo. Esses compostos não são tão abundantes quanto o nitrogênio gasoso e, por isso, a escassez de nitrogênio nos solos é, normalmente, o principal fator limitante ao crescimento vegetal.

A fixação de nitrogênio industrial tem um alto custo energético, pois depende da queima de combustíveis fósseis. Neste processo, o  $N_2$  reage com o  $H_2$  [ $N_2(g) + 3H_2(g) \rightarrow 2NH_3(g)$ ], em alta temperatura (400 a 600 °C) e pressão (140 a 340 atm), na presença de metais catalisadores (FeO com pequenas impurezas de AlO, MgO, CaO e  $K_2O$ ), para formar amônia ( $NH_3$ ). É o hidrogênio, derivado do gás natural, petróleo ou carvão, o responsável pelo gasto energético. Apesar do seu alto custo, em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, esse processo chega a contribuir com um terço do nitrogênio fixado por ano. Isso dá uma idéia das vantagens e da redução nos custos de produção em culturas que fixam o  $N_2$  atmosférico, como, por exemplo, ocorre no Brasil na produção da soja nos Cerrados.

O ciclo do nitrogênio é o processo pelo qual essa limitada quantidade de nitrogênio circula e recircula por todas as partes do mundo e dos organismos. Os três principais estágios desse ciclo são: (1) amonificação, (2) nitrificação e (3) assimilação.

O nitrogênio do solo é derivado de organismos mortos e encontra-se na forma de materiais orgânicos complexos (proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos e nucleotídeos) que são quebrados em compostos simples por bactérias saprófitas do solo e por vários fungos. O nitrogênio é incorporado na forma de aminoácidos e proteínas por esses microrganismos e o excesso é liberado sob a forma de gás amônia ( $NH_3$ ). No solo, a amônia ( $NH_3$ ) produzida pela ação microbiana é dissolvida na água, onde se combina com prótons ( $H^+$ ) para formar o íon amônio ( $NH_4^+$ ), em um processo denominado *amonificação* ou *mineralização* do nitrogênio.

Embora as plantas possam absorver o nitrogênio na forma  $NH_4^+$ , preferencialmente elas absorvem esse elemento na forma de  $NO_3^-$ , que é menos reativo. Em alguns solos, bactérias nitrificantes (*Nitrossomonas*), oxidam a amônia (*nitrificação*) formando íons nitrito ( $NO_2^-$ ) em um processo que libera energia. O  $NO_2^-$  é tóxico para as plantas, mas a ação de outra bactéria (*Nitrobacter*) promove a sua oxidação, formando íons de nitrato ( $NO_3^-$ ), que são menos tóxicos, liberando novamente energia. Assim, o ( $NO_3^-$ ) é a forma pela qual quase todo o nitrogênio é absorvido pela maioria das plantas cultivadas que crescem em terra firme.

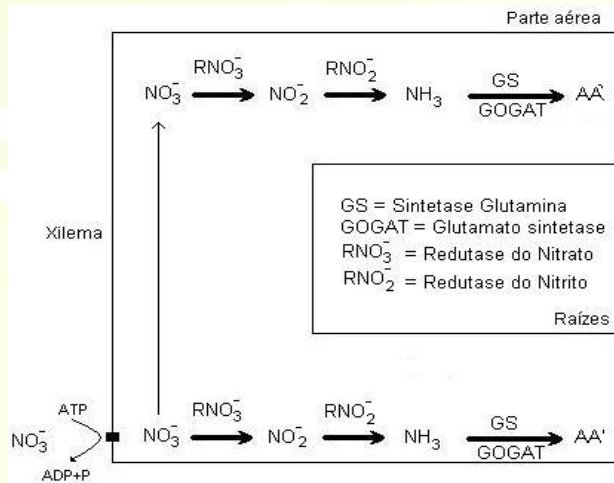
Além de reciclar o nitrogênio, o sistema solo-planta também perde nitrogênio por intermédio da *desnitrificação*, processo anaeróbico no qual o nitrato ( $NO_3^-$ ) é reduzido a formas voláteis de nitrogênio, nitrogênio gasoso ( $N_2$ ) ou óxido de nitrogênio ( $N_2O$ ), que retornam à atmosfera. O nitrogênio também é perdido nos ecossistemas devido à remoção de plantas (durante a colheita), à erosão, à destruição da cobertura vegetal pelo fogo e à lixiviação. A reposição do nitrogênio é necessária à manutenção da vida na Terra e ocorre, primariamente, por meio do processo de fixação biológica (executada por bactérias específicas). Uma quantidade muito menor é adicionada via precipitação atmosférica e pelo intemperismo de rochas.

### **Assimilação de nitrogênio:**

O nitrato ( $NO_3^-$ ) é a principal fonte de nitrogênio disponível para plantas cultivadas. Por ser um ânion, esse íon é absorvido ativamente pelas raízes. Uma vez no interior das raízes, o  $NO_3^-$  pode ser reduzido e metabolizado formando aminoácidos ou, então, ser transportado para a parte aérea, onde seguirá o mesmo processo de transformação verificado nas raízes. Essa transformação de uma molécula inorgânica ( $NO_3^-$ ) em um composto orgânico (aminoácidos) ocorre com a participação de enzimas redutases, que liberam amônia, e das enzimas sintetase da glutamina (GS), sintetase do glutamato (GOGAT) e glutamato desidrogenase (GDH), possibilitando a formação de glutamina e de glutamato, os quais originam os demais aminoácidos através de reações de *transaminação*. Na maioria das plantas herbáceas, esse processo ocorre nos cloroplastos das folhas, estando associada à fotossíntese. Quando a quantidade de nitrato disponível para as raízes é pequena, a redução do nitrato ocorre primariamente nos plastídios das raízes e o produto final, um aminoácido, é transportado via xilema para as demais partes da planta. Quando há disponibilidade suficiente de  $NO_3^-$  nas raízes, esse é translocado para a parte aérea na forma de  $KNO_3$  (conforme esquema a seguir):



**Esquema 1.** Transporte do nitrato e resumos da sua transformação em aminoácido.



### Fixação Biológica do Nitrogênio ( $\text{N}_2$ ):

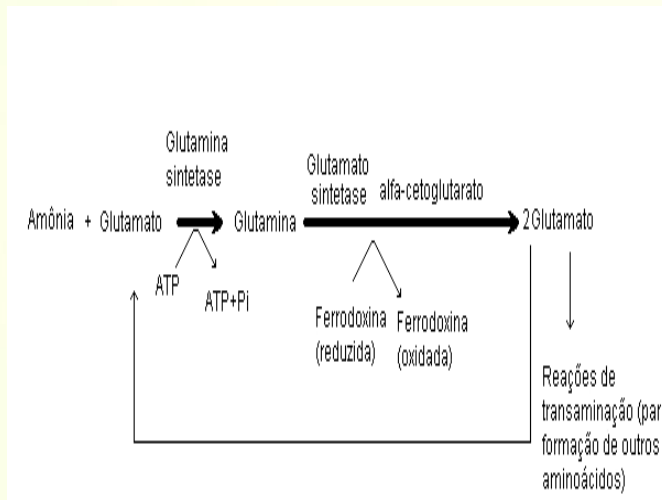
O processo de *fixação biológica do nitrogênio* consiste na *redução* do  $\text{N}_2$  atmosférico até  $\text{NH}_4^+$ , forma disponível para ser transferida a compostos contendo carbono, possibilitando a produção de aminoácidos e outras substâncias orgânicas contendo nitrogênio.

A fixação biológica do nitrogênio é catalisada por uma enzima sintetizada pelas bactérias fixadoras, denominada *nitrogenase*. Essa enzima contém grupos prostéticos de molibdênio, ferro e sulfato. Por esse motivo, esses elementos são essenciais às plantas fixadoras de  $\text{N}_2$ . A *nitrogenase* utiliza grande quantidade de ATP como fonte de energia, tornando a fixação biológica um processo metabolicamente dispendioso. A equação que resume esse processo é apresentada a seguir:



Sob condições naturais, quantidades consideráveis de  $\text{H}^+$  são reduzidas a  $\text{H}_2$  (gás). Esse processo pode competir com a redução do  $\text{N}_2$  pelos elétrons da nitrogenase. Nos rizóbios, 30 a 60% da energia fornecida para a nitrogenase pode ser perdido como  $\text{H}_2$ , reduzindo a eficiência de fixação do nitrogênio. Alguns rizóbios, entretanto, apresentam além da nitrogenase, a *hidrogenase*, uma enzima que pode clivar o  $\text{H}_2$  formado e gerar elétrons para a redução do  $\text{N}_2$ , aumentando, assim, a eficiência de fixação do nitrogênio. Rizóbios que possuem hidrogenase são denominados estirpes "*up<sup>+</sup>*".

As bactérias fixadoras de nitrogênio mais eficientes formam associações simbióticas com as plantas. As mais comuns são *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, as quais colonizam raízes de leguminosas. A associação entre as bactérias e as plantas é altamente específica. O resultado é um solo enriquecido em nitrogênio. Essas bactérias (genericamente denominadas *rizóbio*) entram nos pêlos radiculares das leguminosas quando elas ainda estão no estágio de plântulas, formando estruturas tubulares, os *canais de infecção*. Ao aumentar de tamanho e tornarem-se efetivamente fixadores de nitrogênio, os rizóbios param de se multiplicar, sendo denominadas *bacterióides* (ou *bacteróides*). Com a proliferação contínua dos bacterióides e também das células corticais das raízes, surgem crescimentos tumorais, conhecidos como *nódulos*.



**Esquema 2.** Resumo da transformação da amônia em aminoácido.

Para o funcionamento desse processo, é necessária a regulação da concentração de  $O_2$  nos nódulos, uma vez que esse gás é um *potente inibidor irreversível* da *nitrogenase*. Em contraste, *as bactérias fixadoras de  $N_2$  são aeróbias*, o que *exige a participação de uma molécula transportadora de oxigênio*, a *leg-hemoglobina*. A *leg-hemoglobina* está presente em concentrações elevadas no citossol das células do nódulo (700  $\mu M$  em soja), conferindo a esses uma *coloração rosada*. Essa molécula somente é formada em resposta à simbiose, sendo a porção *heme* sintetizada pelo DNA da bactéria enquanto que a porção *globina* é sintetizada pelo DNA da planta. A *leg-hemoglobina* apresenta uma alta afinidade pelo oxigênio ( $K_m \approx 0,01 \mu M$ ), cerca de 10 vezes mais do que a cadeia  $\beta$  da hemoglobina humana. Embora inicialmente tenha sido atribuída à *leg-hemoglobina* o papel de tampão de oxigênio, estudos recentes indicam que ela *armazena uma quantidade suficiente de oxigênio para a manutenção da respiração nodular apenas por poucos segundos*. A *leg-hemoglobina* se liga ao oxigênio no citoplasma das células infectadas dos nódulos, *facilitando a difusão do oxigênio, permitindo a respiração da bactéria* (importante para suprir a demanda de ATP) *sem a ocorrência de inibição da nitrogenase*.

O mecanismo de ligação inicial das bactérias à superfície dos pelos radiculares é ainda pouco conhecido, mas sugere-se que as raízes atraem as bactérias para a sua superfície em uma resposta *quimioestática* devido à liberação de atrativos químicos, em especial de *isoflavonóides* e *betaínas*. Tais atrativos ativam a proteína NodD da rizóbio, induzindo a transcrição dos seus genes *nod*, o que resulta na liberação de fatores Nod, pequenos *oligossacarídeos* de *lipoquitina*, que vão ativar, posteriormente, os genes *Nod* de nodulação da planta. Os receptores na planta (leguminosa) para os fatores Nod parecem ser *lectinas* especiais (proteínas de ligação a açúcares) que interagem com as bactérias e facilitam a sua ligação às paredes celulares dos pêlos radiculares. A consequência dessa interação é a *curvatura dos pelos radiculares*, permitindo o *acúmulo das bactérias* e a posterior *degradação das paredes celulares* dos pelos no início do processo de *infecção*.

Durante a infecção é formado um *canal de infecção* devido à invaginação da membrana plasmática dos pelos radiculares. Novos materiais para a formação de membranas são sintetizados a partir do complexo de Golgi. Durante a infecção as bactérias se multiplicam. Paralelamente ao processo de infecção ocorre o desenvolvimento dos nódulos. Esse processo envolve a participação de diferentes fitormônios. Nas regiões mais profundas das raízes, próximo ao xilema, as células

corticais desdiferenciam e iniciam um processo de divisão celular, dando origem a uma área distinta denominada *primórdio nodular* (meristema nodular primário). Os primórdios nodulares são formados em posição oposta aos pólos do protoxilema. O nucleosídeo *uridina* (atividade similar às citocininas) difunde-se do estelo para o córtex, na zona do protoxilema da raiz e estimula a divisão celular. O *etileno* é sintetizado na região do periciclo, difundindo-se para o córtex onde bloqueia a divisão celular no pólo oposto ao floema na raiz. Após a penetração do canal de infecção até a região de nodulação e de uma sinalização da planta, as bactérias param de se multiplicar e aumentam de tamanho, momento em que elas são liberadas no interior de vesículas se diferenciando em organelas *endossimbióticas* denominadas *bacteróides*. A membrana que envolve os bacteróides é denominada *membrana peribacterióide*. O nódulo como um todo se desenvolve e adquire características semelhantes a um sistema vascular, o que facilita as trocas entre o nitrogênio fixado pelos *bacteróides* por nutrientes disponibilizados pelas plantas. É formada também uma camada de células que tem por finalidade excluir o oxigênio do interior do nódulo nas raízes. Nas cianobactérias, as condições de anaerobiose são criadas em células especializadas denominadas *heterocistos*. Os heterocistos são células com paredes espessadas, que se diferenciam quando as cianobactérias são privadas de  $NH_4^+$ . Tais células não apresentam fotossistema II, relacionado à produção de oxigênio nos cloroplastos, o que poderia inativar a nitrogenase. Os heterocistos parecem representar uma adaptação para que ocorra a fixação do nitrogênio, sendo encontrados largamente entre cianobactérias aeróbias fixadoras do nitrogênio.

As leguminosas fixadoras de nitrogênio podem ser classificadas em exportadoras de *amidas* ou exportadoras de *ureídeos*, considerando-se a composição da seiva do xilema. As *amidas* (asparagina ou glutamina) são *exportadas por leguminosas de regiões temperadas*, tais como ervilha (*Pisum*), trevo (*Trifolium*), fava (*Vicia*) e lentilha (*Lens*). As *ureídas* são *exportadas por leguminosas de origem tropical*, tais como a soja (*Glycine*), o feijão (*Phaseolus*), o amendoim (*Arachis*) e a *Vigna*. As três principais ureídas são a alantoína (sintetizada nos peroxissomos a partir do ácido úrico), o ácido alantóico (sintetizado no retículo enoplasmático a partir da alantoína), e a citrulina (sintetizada em local ainda desconhecido a partir do aminoácido ornitina). Esses três ureídeos são liberados no xilema e transportados para a parte aérea, onde são rapidamente catabolizados a amônio. Esse amônio entra na rota de assimilação descrita anteriormente envolvendo o sistema GS/GOGAT/GDH.



Outra relação simbiótica de interesse agrícola/biológico envolve a *Azolla*, uma pequena pteridófita aquática e a *Anabaena*, uma cianobactéria fixadora de nitrogênio, que vive nas cavidades da *Azolla*. Sua relação é única, pois é mantida durante todo o ciclo de vida do hospedeiro. Na Ásia, seu crescimento massivo é permitido nas plantações de arroz, cujas plantas em desenvolvimento acabam sombreando as plantas de *Azolla*. À medida que a pteridófita morre, o nitrogênio é liberado para a nutrição das plantas de arroz. A associação *Azolla-Anabaena* pode fixar 0,5 kg de nitrogênio por hectare/dia, taxa suficiente para manter uma lavoura de arroz.

Existem outras formas de fixações simbióticas do nitrogênio que não envolvem leguminosas, sendo os nódulos formados preenchidos por *actinomicetos* e por outros organismos procariontes. Existem também bactérias fixadoras de nitrogênio não simbiotes, encontradas vivendo livremente no solo, embora algumas delas também possam realizar simbiose para a fixação do nitrogênio atmosférico. As bactérias de vida livre fixadoras de nitrogênio podem ser aeróbias, anaeróbias ou facultativas. As bactérias aeróbias, como *Azotobacter*, mantêm condições reduzidas de oxigênio (condições microaeróbias) por meio de suas altas taxas respiratórias. Outras bactérias, como *Gloeotheca*, liberam oxigênio fotossintético durante o dia e fixam nitrogênio durante a noite. As espécies facultativas somente fixam o nitrogênio quando estão em condições de anaerobiose.

O quadro a seguir apresenta um resumo com os organismos que podem realizar a fixação do nitrogênio e as principais associações simbióticas entre plantas hospedeiras e os rizóbios.

Fixação Simbiótica do Nitrogênio:	
Planta hospedeira:	Organismo simbiótico:
Legumes: Leguminosas e <i>Parasponia</i>	<i>Rhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Azorhizobium</i> , <i>Photorhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i> .
Actinorrízicas: <i>Alnus</i> (árvore), <i>Ceanothus</i> (arbusto), <i>Casuarina</i> (árvore), <i>Datisca</i> (arbusto).	<i>Frankia</i> (actinomiceto).
<i>Gunnera</i>	<i>Nostoc</i> .
<i>Azolla</i> (pteridófita aquática)	<i>Anabaena</i> .
Cana-de-açúcar	<i>Acetobacter</i> .
Gramíneas tropicais	<i>Azospirillum</i> (actinomiceto).

Fixação Não-Simbiótica do Nitrogênio (fixadores de vida livre):	
Tipo:	Gêneros:
Cianobactéria (alga verde azulada):	<i>Nostoc</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Calothrix</i> .
<b>Outras bactérias:</b>	
<i>Aeróbicas:</i>	<i>Azotobacter</i> , <i>Dexia</i> , <i>Azospirillum</i> , <i>Beijerinckia</i> .
<i>Facultativas:</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i> .
<i>Anaeróbicas:</i>	
Não fotossintetizante:	<i>Clostridium</i> .
Fotossintetizante:	<i>Rhodospirillum</i> .

Associação entre plantas hospedeiras e rizóbios:	
Planta hospedeira	Rizóbios simbiotes:
<i>Parasponia</i> (não leguminosa, anteriormente denominada <i>Trema</i> )	<i>Bradyrhizobium</i> sp.
Soja ( <i>Glycine max</i> )	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (crescimento lento). <i>Sinorhizobium fredii</i> (crescimento rápido).
Alfafa ( <i>Medicago sativa</i> )	<i>Sinorhizobium meliloti</i> .
<i>Sesbania</i> (aquática)	<i>Azorhizobium</i> (forma nódulos nas raízes e no caule; no caule se desenvolvem raízes adventícias).
Feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i> ; <i>Rhizobium tropicii</i> ; <i>Rhizobium etli</i> .
Trevo ( <i>Trifolium</i> )	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> .
Trevo doce	<i>Sinorhizobium meliloti</i> .
Ervilha ( <i>Pisum sativum</i> )	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> .
<i>Aeschenomene</i> (aquática)	<i>Photorhizobium</i> (rizóbios fotossintética-mente ativos, que formam nódulos no caule, provavelmente associados a raízes adventícias).

### **Pesquisas em nutrição mineral de plantas:**

A aplicação de adubos químicos ou mesmo a correção do pH do solo, ou ainda a remoção de minerais em excesso podem não ser os únicos meios para melhoria de cultivares. Técnicas que visam obter plantas mais adaptadas a ambientes deficientes e/ou com concentração excessiva em certos nutrientes são desenvolvidas para melhor atenderem a essa necessidade. Para ambientes ricos em substâncias tóxicas, utilizam-se cultivares adaptadas e/ou capacitadas na absorção dessas substâncias em excesso nos solos, promovendo a remoção e a recuperação do solo (fitorremediação). Essa estratégia apresenta maiores sucessos quando são utilizadas plantas hiperacumuladoras, por exemplo, para absorção de metais pesados ou radioativos acima de níveis normais.

Plantas geneticamente modificadas vêm sendo desenvolvidas, por exemplo, para adsorver (mecanismos de exclusão) ou tolerar (tolerância interna) íons de alumínio, evitando que esse elemento fique disponível para as raízes das plantas, tendo em vista seu efeito tóxico. Com isso, foi possível desenvolver cultivares de importância econômica para solos com essa limitação. O melhoramento genético também vem sendo utilizado para aumentar a eficiência na relação entre plantas leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio, contribuindo, assim, para o aumento da quantidade de carboidratos disponíveis para as bactérias fixadoras do nitrogênio, e de nitrogênio para as plantas, aumentando, desse modo, a produtividade.



# VEGETALOGIA

# UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA





## 7. CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO VEGETAL:

A fase vegetativa do desenvolvimento inicia na embriogênese e continua durante toda a vida da planta. Ao longo dos anos, diferentes estudos elucidaram diversas questões relacionadas à vida das plantas, esclarecendo como o zigoto origina o embrião e este uma plântula e como novas estruturas vegetais surgem a partir de estruturas preexistentes.

Os órgãos vegetais são formados em resposta à divisão e expansão celular, mas também são capazes de formar tecidos nos quais grupos de células adquirem funções especializadas, se organizando em padrões específicos. Como esses tecidos formam um padrão particular de desenvolvimento e como as células se diferenciam, além dos princípios básicos que governam o crescimento durante o desenvolvimento vegetal são perguntas que os biólogos buscam entender e responder. O objetivo final dos biólogos do desenvolvimento é compreender como o crescimento, a diferenciação celular e o padrão de formação são regulados ao nível celular, bioquímico e molecular. Essa concepção deve também incluir as bases genéticas do desenvolvimento, que consiste na revelação dos programas codificados geneticamente, ou seja, o esclarecimento de quais genes estão envolvidos, a sua ordem hierárquica e, como esses genes originam as mudanças observadas no desenvolvimento.

O crescimento envolve "mudanças quantitativas irreversíveis ao nível celular, de tecidos e órgãos". O crescimento compreende variações irreversíveis em termos de peso, tamanho e volume, apresentando dois componentes básicos: a divisão celular, que ocorre especificamente nas células dos meristemas e o alongamento (expansão) celular, que ocorre exclusivamente em células com paredes primárias. A expansão está diretamente associada ao aumento do tamanho do vacúolo, dependendo, portanto, da pressão osmótica resultante do acúmulo de substâncias osmoticamente ativas em seu interior, assim como do "afrouxamento" da parede celular, processo diretamente dependente da ação de auxinas, principais fitormônios relacionados à produção dos "fatores de afrouxamento da parede", como veremos mais à frente.

Uma medida da capacidade de crescimento dos tecidos pode ser obtida com a determinação do módulo de elasticidade ( $m$ ). O módulo de elasticidade é obtido através de estimativas envolvendo a determinação de componentes relacionados ao potencial hídrico, levando-se em conta o aumento esperado no volume celular. O módulo de elasticidade ( $m$ ) fornece informações relacionadas à

*pressão necessária para que a célula aumente o seu volume em uma determinada magnitude. A equação matemática para obtenção do módulo de elasticidade é representada a seguir:*

$$\Psi_{p1} - \Psi_{p0} = m \left( \frac{V1 - V0}{V0} \right) \Rightarrow m = \frac{\Delta P}{\Delta V / V}$$

Pela equação, é possível concluir que quanto *menor* o valor do  $m$ , *menor* será a *resistência da parede celular à expansão*, resultando em uma maior taxa de crescimento relativo do tecido.

As principais medidas de crescimento são as determinações do comprimento (altura, entrenós, etc.), da área, da relação peso fresco/peso seco, do número de células e de estômatos e, de dosagens de substâncias (clorofila, N, etc.), dentre outros. O peso da matéria fresca não é um bom parâmetro para a determinação do crescimento, uma vez que ele depende do potencial hídrico da planta ou do órgão em estudo no momento da sua coleta.

Outro conceito importante relacionado ao desenvolvimento vegetal é a diferenciação. A diferenciação corresponde às mudanças bioquímicas, anatômicas e morfológicas que ocorrem ao nível celular, visando à especialização para histogênese e posterior organogênese. Ao contrário das alterações envolvendo o crescimento, que são irreversíveis, as mudanças envolvendo a diferenciação podem ser reversíveis.

Simplificadamente, o desenvolvimento vegetal pode ser definido como um fenômeno decorrente do somatório dos processos de crescimento e diferenciação celular. O desenvolvimento vegetal encontra-se sobre o controle e a influência de fatores genéticos, hormonais e ambientais. Os hormônios dos vegetais, em função de suas estruturas simples e peculiares, e das diferenças em relação aos hormônios dos animais são denominados fitormônios (ou fitorreguladores). Todavia, os fitormônios são caracterizados segundo os mesmos critérios básicos utilizados na conceituação dos hormônios dos animais. Os fitormônios são definidos como substâncias naturais (mensageiros químicos), produzidas em concentrações reduzidas pela planta, com atuação nos locais de síntese e/ou à distância, e que apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. Os fitormônios, tal como os hormônios dos animais, são considerados mensageiros químicos primários do metabolismo, sendo, provavelmente, as moléculas mais importantes e elaboradas do metabolismo, o que se justifica pela sua participação no controle do crescimento

e desenvolvimento dos vegetais e dos animais. Nas plantas, a síntese dos fitormônios encontra-se sob controle endógeno (genético e metabólico) e/ou ambiental. Além dos fitormônios, que são naturais, as plantas também podem ter seu crescimento e desenvolvimento controlados por substâncias sintéticas com atuação similar às dos fitormônios. Essas moléculas são denominadas reguladores de crescimento, sendo definidas como substâncias sintéticas (artificiais), com propriedades biológicas análogas às dos fitormônios e que também atuam em baixas concentrações, tanto no local onde foram aplicadas quanto à distância.

Para que o crescimento e o desenvolvimento (C&D) ocorram, alguns fatores são importantes, sendo, parte deles, endógenos. O C&D somente ocorrem em células, tecidos e órgãos que apresentam potencial de crescimento, ou seja, que ainda possuem paredes primárias e capacidade para sintetizar fitormônios ou, então, para que os fitormônios e/ou os reguladores de crescimento possam atuar. Além dos fatores endógenos, fatores ambientais também interferem nos processos de C&D. Dentre esses fatores, os mais importantes são a luz, a temperatura, a água e a nutrição mineral.

A luz pode influenciar o C&D em função da intensidade (brilho), qualidade (faixa do espectro) e da duração (fotoperíodo). A radiação luminosa em intensidade reduzida pode causar estiolamento e redução do crescimento; em intensidade elevada pode provocar espessamento das folhas, aumento na temperatura e redução do crescimento, dentre outros efeitos. Em ambientes tropicais, a intensidade de radiação luminosa encontra-se próximo a 2000  $\mu\text{moles}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Em muitas espécies, a duração do período de iluminação (fotoperíodo) controla a passagem do estágio de crescimento vegetativo para o reprodutivo (fotoperiodismo). A qualidade da radiação luminosa deve estar dentro da faixa da radiação fotossinteticamente ativa, ou seja, entre 400-700 nm.

A temperatura também pode influenciar o C&D através de seus efeitos sobre diversos processos metabólicos, em especial sobre os processos enzimáticos. Se considerarmos apenas os efeitos da temperatura na fotossíntese, verificamos que a faixa de temperatura ótima para trigo encontra-se entre 20-25°C; para milho encontra-se entre 30-35°C; para espécies árticas entre 5-10°C e, para espécies de desertos acima de 35°C. A variação nas temperaturas diurna e noturna é um fator que geralmente está relacionada ao aumento na taxa de crescimento das plantas, o que pode ser decorrente da necessidade de redução do metabolismo celular em um determinado período do dia.

A água também é essencial para o C&D uma vez que ela direta ou indiretamente interfere sobre processos metabólicos, sendo fundamental para a vida celular. Sem água ou com baixa disponibilidade, o alongamento (expansão) celular é reduzido, resultando em uma menor taxa de crescimento do indivíduo. A hidroperiodicidade (regime de chuvas ou de irrigação) também pode controlar alguns processos de mudança de fase (vegetativo-reprodutiva).

A nutrição mineral também tem efeitos diretos sobre o C&D uma vez que os elementos essenciais interferem em diferentes processos do metabolismo, podendo inclusive exercer atividade sinalizadora, como no caso do  $\text{Ca}^{2+}$ , considerado um mensageiro secundário do metabolismo vegetal. As deficiências nutricionais resultam em menores taxas de crescimento ou mesmo em morte da planta. As respostas das plantas dependem do tipo solo, do pH, da salinidade, da presença de íons tóxicos, da textura e dos gases, dentre outros. Tanto o excesso quanto a carência de elementos essenciais podem ser prejudiciais ao C&D das plantas.

#### **Os Fitormônios:**

Os fitormônios são moléculas sinalizadoras primárias do metabolismo. A atividade dos fitormônios depende, basicamente, de três condições:

- a) da existência do sinalizador (fitormônio) em quantidades suficientes na célula;
- b) do reconhecimento do fitormônio e da sua ligação às células alvo (molécula receptora);
- c) da ativação da molécula receptora, causando alterações metabólicas que resultam em modificação do fenótipo.

Nos tecidos vegetais existem inúmeras substâncias naturais com propriedades hormonais. Dentre essas substâncias, a maioria pertence a um dos grupos de sinalizadores específicos, denominados *fitormônios clássicos*. Essa classificação é devida à ocorrência generalizada na maioria das espécies estudadas, à sua identificação mais remota, além da sua popularidade. Cinco diferentes classes de fitormônios (e de reguladores de crescimento) se destacam: *auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico*.

A manutenção dos níveis endógenos dos fitormônios em concentrações adequadas ao C&D encontra-se sobre o controle de diferentes mecanismos. O equilíbrio dinâmico (*steady state*) dos níveis dos fitormônios é controlado na biosíntese (expressão gênica); através da *compartimentação* em organelas e no



vacúolo (armazenamento reversível); através da *ligação* (reversível) a diferentes moléculas (perda momentânea ou permanente de atividade biológica, não sofrendo ação enzimática (catabolismo) enquanto estão sendo transportados e/ou armazenados) e; através da *degradação*, resultante de catabolismo (irreversível), realizado por ação enzimática.

### **Auxinas:**

O termo *auxina* é derivado da palavra grega “*auxein*” que significa “*crescer*”. As auxinas incluem *substâncias naturais ou sintéticas* relacionadas ao estímulo do alongamento celular, de tecidos e órgãos. A descoberta das auxinas foi um processo longo que iniciou com os estudos realizados por Darwin, relacionados à curvatura fototrópica (em direção à luz) de coleótilos (órgão protetor das folhas jovens) de plantas de alpiste. Quando esses órgãos são iluminados unilateralmente eles apresentam curvatura em direção à fonte de luz. O ápice, principal região de produção das auxinas, é a região do coleótilo com maior sensibilidade à luz, uma vez que se essa porção é encoberta com um capuz opaco (papel alumínio) ou cortada, não se observa a curvatura. Porém, a região de curvatura localiza-se abaixo do ápice, na zona de crescimento, o que levou à especulação do envolvimento de alguma substância difusível. Os resultados desses experimentos foram publicados por Darwin, em 1881, no livro *The Power of Movement in Plants (A Força do Movimento em Plantas)*. A importância do ápice para percepção da radiação, a necessidade de transporte lateral e de difusão basípeta de alguma substância foi comprovada em experimentos distintos e por diferentes pesquisadores. Coube a Frits W. Went, em 1926, comprovar que uma substância difusível podia ser coletada em blocos de gelatina provenientes dos ápices das plantas de aveia (*Avena sativa*). Quando esses blocos eram assentados unilateralmente em coleótilos decapitados e mantidos no escuro, uma curvatura era observada, sendo o ângulo de curvatura diretamente proporcional à concentração de AIA translocada para o bloco de gelatina. Anos mais tarde (1930), a identidade química da substância difundida foi estabelecida, sendo correspondente ao *Ácido Indol-3-Acético (AIA)*.

O AIA é a principal auxina natural das plantas superiores. Existem múltiplas rotas de biossíntese do AIA. A mais conhecida é a derivada do aminoácido *triptofano*, embora se conheçam rotas triptofano-independentes. Outras substâncias indólicas também podem originar o AIA. Os principais locais de síntese do AIA são os meristemas vegetativos da parte aérea, os primórdios foliares, as folhas jovens e as sementes em desenvolvimento, ou seja, a síntese do AIA ocorre

em órgãos com alta atividade metabólica. Além do AIA, outras auxinas naturais são o *Ácido Phenil-Acético (APA)* e o *Ácido 4-cloroindol-3-Acético (4-Cl-AIA)*.

A ligação das auxinas a determinadas moléculas aparentemente se relaciona à redução na quantidade de auxinas livres (ativas), ao seu transporte ou à proteção contra a degradação causada pelo catabolismo enzimático. Nessa condição, as auxinas não possuem atividade biológica. O processo de ligação pode ser reversível por *hidrólise*, voltando o AIA a apresentar atividade biológica. A ligação das auxinas a essas substâncias, como dos demais fitormônios, parece estar relacionada à necessidade de um controle fino e preciso da concentração endógena dos fitormônios, que não devem permanecer em níveis excessivos ou sob deficiência em determinadas fases do desenvolvimento vegetal. Como exemplos de auxinas ligadas destacam-se o *AIA-myo-inositol*, *AIA-N-Aspartato* e o *AIA-Glucan*.

A degradação das auxinas, por muito tempo, acreditou-se ser decorrente da fotoxidação, numa interpretação equivocada do fenômeno de curvatura fototrópica. Posteriormente, descobriu-se que a *fotoxidação* somente ocorre *in vitro*. A ação de *peroxidases* (enzimas) na *degradação do AIA*, originando o *3-metileno-oxindol (catabólito)* é um processo comprovado *in vitro*, embora acredite-se que ele também ocorra *in vivo*. As rotas de degradação mais aceitas envolvem a formação do *Acido Oxindol-3-Acético (OxAIA)*, um composto que ocorre naturalmente no endosperma de milho e, por conjugação, originando o *Indol-3-Acetil-Aspartato*.

As principais substâncias sintéticas com atividade auxínica conhecidas são o *Ácido Indol-3-Butírico (AIB)*, comumente utilizado no enraizamento *in vivo* de estacas e o *Ácido Naftaleno-Acético (ANA)*, muito utilizado para o enraizamento *in vitro* de mini-estacas em cultura de tecidos. Outra auxina sintética é *Ácido 2,4,5-Triclorophenoxy-acético (2,4,5-T)*, componente do conhecido e trágico “*agente laranja*” (que também continha o *2,4-D*), utilizado pela força aérea dos EUA na Guerra do Vietnã, com objetivos militares de promover desfolha em árvores. Por questões de negligência e pressa para a sua utilização durante a Guerra do Vietnã, o *2,4,5-T* foi produzido sem a purificação adequada, apresentando teores elevados de uma substância cancerígena. A *2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina*, também conhecida como TCDD ou (popularmente) como dioxina de Seveso, é considerada um poluente organoclorado altamente tóxico. Este resíduo não é normalmente encontrado nos produtos comerciais que incluem estes dois ingredientes, mas marcou para sempre o nome do agente laranja, cujo uso deixou sequelas terríveis na população daquele país e nos próprios soldados norte-americanos. Outra auxina

sintética que merece destaque é *Ácido 2-4-Dicloro-fenoxi-acético (2,4-D)*, ainda utilizado comercialmente como herbicida seletivo. Quando aplicado em concentrações adequadas, o *2,4-D* causa senescência e abscisão apenas em espécies latifoliadas (plantas de folhas largas). Esse herbicida é bastante utilizado em plantios de monocotiledôneas como milho, trigo e cana. No Brasil, o *2,4-D* é vendido no com o nome comercial Tordon®. Embora menos tóxico que o *2,4,5-T*, em concentrações elevadas, também apresenta efeitos residuais potencialmente tóxicos para o ambiente.

A atividade das auxinas pode ser comprovada com a utilização de moléculas denominadas *anti-auxinas*, substâncias sintéticas e análogas às auxinas, embora apresentem atividade antagônica. As anti-auxinas competem com AIA por receptores localizados nas membranas das células-alvo ou impedem o seu transporte. São exemplos de anti-auxinas o *Ácido Tri-Iodo Benzóico (TIBA)*, o *Ácido 1-N-Naftilftalâmico (NPA)* e o *Ácido 1-Naftoxiacético (1-NOA)*.

O transporte das auxinas é um processo interessante dentre os demais fitormônios. Em pH neutro, compostos com atividade auxínica apresentam carga líquida negativa, o que é decorrente da dissociação de prótons ( $H^+$ ) dos grupos carboxílicos dos ácidos que compõem a sua molécula ( $AIAH \rightleftharpoons AIA^- + H^+$ ). Essa característica apresenta influência direta sobre o transporte polar das auxinas, sendo o AIA o único fitormônio que apresenta esse mecanismo de transporte. O transporte polar do AIA ocorre em menor velocidade que o transporte da seiva floemática. O *transporte* não ocorre nas células do xilema ou do floema, mas *nas células de parenquima* que ficam *entre* esses *feixes de condução* (tecidos vasculares) das plantas. Nos caules e nas folhas, o transporte do AIA ocorre em direção à base (basípeto) e, nas raízes, em direção ao seu ápice (acrópeto). Embora o transporte polar do AIA não envolva gasto direto de energia, ele depende de mecanismos onde há consumo de ATP. Esse fato pode ser demonstrado com a utilização de inibidores de síntese de ATP, como o dinitrofenol, por exemplo, que inibem o transporte do AIA. Por esse motivo, o *transporte polar do AIA* é considerado *dependente de energia*. Esse transporte independe da força da gravidade, o que pode ser comprovado com a utilização de segmentos de caule nos quais, nas extremidades, são colocados blocos de gelatina. O acúmulo de AIA sempre é percebido nos blocos correspondentes ao pólo basal das estacas, independente da sua orientação. Esse mecanismo de transporte explica a manutenção da polaridade das estacas em sistemas de indução de enraizamento

adventício, em que as raízes são formadas sempre nas bases morfológicas das estacas.

Esse comportamento está diretamente relacionado à presença de proteínas carreadoras de AIA, denominadas proteínas *PIN*, que se localizam quase que exclusivamente nas porções basais das células. O transporte polar do AIA ocorre em velocidade que varia entre 5 a 20  $cm\ h^{-1}$ , o que é mais rápido do que as taxas de difusão, embora seja mais lento do que a velocidade de translocação no floema. A constante de dissociação (*pKa*) do AIA é 4,75. Em pH menor que 5, o AIA predomina na forma molecular (AIAH). Em contraste, em pH acima desse valor, o AIA predomina na forma aniônica ou ionizada ( $AIA^-$ ). A *forma AIAH* é *lipofílica*, ou seja, pode atravessar livremente as membranas, enquanto que a *forma  $AIA^-$*  fica *armazenada em compartimentos alcalinos*. O *apoplasto*, pela ação das  $H^+$ -ATPases é *ácido*, enquanto o *pH do citossol* encontra-se próximo à *neutralidade*. Inicialmente, há um acúmulo de  $AIA^-$  no citossol das células onde a auxina é sintetizada. Em função desse acúmulo, estabelece-se um gradiente eletroquímico entre o citossol e os espaços intercelulares, o que faz com que as proteínas, carreadoras de  $AIA^-$  (*PIN*) permitam, por *difusão facilitada*, a saída do  $AIA^-$  para os espaços intercelulares. Ao chegar no apoplasto, em função de seu pH ácido, o  $AIA^-$  combina-se com o  $H^+$ , originando o AIAH (lipofílico), que atravessa livremente a membrana da célula seguinte, onde será armazenado novamente no citossol na forma  $AIA^-$  (em decorrência do pH neutro desse ambiente). Esses processos se repetem continuamente do local de síntese do AIA até os locais de utilização e/ou de armazenamento, resultando no transporte basípeto, polar e “ativo” das auxinas (também denominado *modelo quimiosmótico de transporte do AIA*). O controle do transporte de auxinas é aparentemente realizado sobre o efluxo do  $AIA^-$  (proteínas *PIN*), provavelmente envolvendo flavonóides.

Todavia, nem todo AIA produzido é transportado de modo “ativo”, podendo também ser transportado passivamente no floema. Esse mecanismo predomina no transporte do AIA produzido em folhas maduras. Além da difusão facilitada do AIA na forma AIAH (lipofílica), alguns estudos recentes demonstraram que também pode haver influxo do AIA na forma  $AIA^-$ , através de um mecanismo de co-transporte (simporte) envolvendo  $2H^+$  (permease do  $H^+$ - $AIA^-$ ). Esse processo está relacionado à participação de um transportador de auxina recentemente identificado em *Arabidopsis*, denominado *AUX1*. Como previsto pelo modelo quimiosmótico, *AUX1* parece estar uniformemente distribuído em torno das células na rota de transporte polar. Assim, a polaridade do transporte de auxinas é



geralmente governada mais pelo efluxo do que pelo influxo de auxinas. Nas raízes, o transporte não polar de auxinas, realizado no floema, também envolve AUX1. Mutantes *aux1* de *Arabidopsis* são agravitrópicos, sugerindo que, nas raízes, o influxo de auxinas é um fator limitante para o gravitropismo. Nas raízes, as proteínas AUX1 também são localizadas assimetricamente nas células de parênquima do protofloema. Elas direcionam o transporte acrópeto (base →ápice) de auxinas em direção a um grupo de células localizadas na columela da coifa. A auxina é, então, transportada de forma basípeta (ápice → base) para a zona de alongamento, o que é facilitado pelas proteínas PIN (AGR1). A auxina transportada de forma basípeta acumula-se na zona de alongamento e não ultrapassa essa região. Flavonóides capazes de inibir o efluxo de auxinas são sintetizados nessa região da raiz e, provavelmente, promovem a retenção das auxinas por essas células. De acordo com o modelo, o transporte basípeta de auxinas em raízes posicionadas verticalmente é equivalente nos dois lados. No entanto, quando a raiz é colocada horizontalmente, a coifa redireciona a maior parte da auxina para a metade inferior, inibindo, assim, o crescimento desse lado, resultando na curvatura (geotropismo).

### **Efeitos Biológicos das Auxinas:**

#### Alongamento celular:

As auxinas são os fitormônios mais diretamente associados ao alongamento celular, embora as giberelinas também contribuam para esse processo (os mecanismos envolvidos são diferentes). A faixa de concentração para promoção do alongamento celular varia de  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$  M. O excesso de auxinas, entretanto, inibe o alongamento, o que ocorre em decorrência do estímulo à síntese do etileno. Os efeitos das auxinas se manifestam em diversos parâmetros biofísicos, nas propriedades mecânicas da parede, na pressão osmótica e na turgescência, e na permeabilidade (condutividade hidráulica da membrana), dentre outros.

O alongamento celular associado às auxinas é explicado pela “teoria do crescimento ácido”. Logo após a administração de diferentes auxinas uma forte acidificação da parede é observada, o que é decorrente do aumento no bombeamento de prótons ( $H^+$ ) em resposta ao estímulo à atividade da  $H^+$ -ATPase, em processo ativado pelas auxinas. A acidificação é responsável pela produção dos “fatores de afrouxamento da parede”, enzimas que promovem o aumento da extensibilidade da parede. Essas enzimas correspondem às pectinases, hidrolases, celulasas, hemicelulasas e às expansinas, proteínas relacionadas à flexibilização das

ligações cruzadas entre as microfibrilas de celulose (enfraquecem as pontes de hidrogênio entre os polissacarídeos da parede), permitindo a expansão (alongamento) celular.

Em função das propriedades viscoelásticas das paredes primárias, elas sofrem um amolecimento irreversível, decorrente do que se denomina “estresse de relaxamento”, resultante do aumento na pressão de turgescência (entre 0,3 e 1,0 MPa) gerada pelos íons acumulados no vacúolo. Devido à geometria das células vegetais, essa pressão corresponde a um estresse tensil na parede entre 10 e 100 MPa, o que é bastante elevado. A taxa de alongamento celular pode ser medida pela equação  $GR = m (\Psi_p - Y)$ , onde GR = taxa de alongamento celular;  $m$  = módulo de elasticidade (extensibilidade da parede);  $\Psi_p$  = Pressão de turgescência;  $Y$  = limiar de cedência (valor de turgescência no qual o crescimento cessa). O alongamento celular também depende da taxa de absorção de água pela célula, que pode ser determinada pela equação  $TA_{H_2O} = A \times L_p (\Psi_o - \Psi_i)$ , onde  $A$  = área de superfície celular ( $m^2$ );  $L_p$  = permeabilidade da membrana plasmática à água ( $m s^{-1} MPa^{-1}$ );  $\Psi_o$  = potencial hídrico fora da célula (MPa);  $\Psi_i$  = potencial hídrico dentro da célula (MPa).

#### Dominância apical:

O fenômeno de inibição do crescimento das gemas basais pela gema apical, denominado dominância apical, é associado à produção de AIA nas gemas apicais e ao seu transporte basípeta e polar em direção às bases das plantas. Quando a planta é decapitada, as gemas basais podem brotar, o que, por sua vez, é impedido se na região cortada for adicionado pasta de lanolina misturada a alguma auxina sintética. O balanço entre a concentração de AIA (proveniente dos meristemas apicais da parte aérea) e de citocininas (provenientes das raízes) também parece estar relacionado ao controle da dominância apical.

#### Enraizamento em estacas:

A produção de raízes adventícias em estacas é estimulada por auxinas. Em média, a concentração máxima para a promoção da rizogênese encontra-se em  $10^{-8}$  M. As auxinas promovem a diferenciação de células localizadas no periciclo e na endoderme das estacas, originando as raízes adventícias. Todavia, os efeitos das auxinas sobre o alongamento das raízes são de inibição. Ou seja, as auxinas estimulam e são necessárias apenas para a diferenciação das raízes. A inibição do alongamento das raízes pelas auxinas é muito mais intensa do que a inibição do alongamento dos caules, sendo essa resposta decorrente do estímulo à produção do etileno.

### Diferenciação vascular:

Novos tecidos vasculares diferenciam-se abaixo das gemas em desenvolvimento e das folhas jovens em crescimento, enquanto a remoção de folhas jovens impede a diferenciação vascular. A capacidade das gemas apicais induzirem a diferenciação de tecidos vasculares pode ser demonstrada em cultura de tecidos. Quando uma gema apical é enxertada em um grupo de células não diferenciadas (calos) ocorre a diferenciação de xilema e floema abaixo do enxerto. As quantidades relativas de xilema e floema formadas são reguladas pela concentração de auxina: altas concentrações de auxinas induzem a diferenciação de xilema e de floema, enquanto somente floema se diferencia em baixas concentrações. A regeneração de tecidos vasculares após uma lesão também é controlada pelas auxinas produzidas nas folhas jovens localizadas diretamente acima do local danificado. A remoção das folhas impede a regeneração de tecido vascular, ao passo que a aplicação de auxinas pode substituir as folhas no estímulo à regeneração.

### Tropismos e Nastismos:

As auxinas participam diretamente de alguns tropismos (fototropismo e o geotropismo). O mesmo acontece com as respostas násticas (epinastia e hiponastia). Detalhes sobre essas respostas (tropismos e nastismos) serão estudados em capítulo específico.

### Atraso na Senescência:

As auxinas além de protegerem as folhas da senescência apresentam efeito protetor contra a formação das camadas de abscisão em pedúnculos e pecíolos de folhas, flores e frutos. Todavia, esse efeito protetor somente se manifesta antes da senescência ter iniciado. Após o início da senescência, as auxinas estimulam ainda mais o processo pelo aumento na produção do etileno.

### Desenvolvimento de Frutos:

As auxinas participam diretamente do desenvolvimento dos frutos. Elas contribuem para o aumento na *força de dreno* dos frutos, sendo produzidas nos grãos de pólen, no embrião e/ou em outras partes das sementes.

### Produção de frutos partenocarpos:

As auxinas podem proporcionar a formação de frutos partenocarpos, frutos sem sementes cuja polinização pode ter ocorrido mas sem fertilização (sem fusão de gametas).

### Uso Comercial:

As auxinas apresentam diversas aplicações práticas em agricultura e biologia, com destaque para a promoção do enraizamento em estacas (propagação vegetativa = clonagem), indução de florescimento, proteção contra queda de frutos, e indução de partenocarpia, dentre outros.

### **Giberelinas:**

As giberelinas (GAs) são fitormônios envolvidos em diferentes processos do C&D vegetal. A altura (porte) das plantas depende diretamente da ação das GAs. Somente 30 anos após as auxinas terem sido identificadas por Went e mais de duas décadas após a elucidação da estrutura do AIA é que as GAs foram descobertas no Japão, no final da década de 1940. Ewiti Kurosawa, um fitopatologista Japonês foi chamado para analisar um problema observado em plantações de arroz. Em diversas áreas de cultivo, as plantas de arroz cresciam exageradamente, apresentando caules longos e finos e coloração pálida. Essas plantas sofriam acamamento (tombamento) e, em função dessas características, foram denominadas “plantas-bobas” ou “plantas-loucas” (*bakanae*, em Japonês). Os estudos de Kurosawa logo evidenciaram que as plantas de arroz que apresentavam esses sintomas encontravam-se infectadas por um fungo (*Gibberella fujikuroi*). Esse fungo liberava exsudatos constituídos por GAs, responsáveis pelo crescimento excessivo das plantas. Estudos empregando diferentes espécies de fungos do gênero *Gibberella* possibilitaram a identificação inicial de três giberelinas: GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub> e GA<sub>3</sub>. A primeira giberelina natural identificada em plantas superiores foi a giberelina A1 (GA<sub>1</sub>), encontrada em *Phaseolus coccineus*, no ano de 1958. Atualmente, mais de 120 giberelinas sintéticas são conhecidas. Elas são identificadas por um número (n) - GA<sub>n</sub>, sendo a giberelina mais conhecida o GA<sub>3</sub> (ácido giberélico), principal giberelina utilizada em estudos de germinação de sementes e de indução de alongamento em plantas intactas. Nas plantas há uma grande abundância de giberelinas, embora apenas algumas apresentem atividade biológica. Não existe nenhuma região específica de síntese das GAs. Todavia, nas sementes, os níveis de GAs são bastante elevados (sintetizadas “*in situ*”). Também não há evidências sobre a especificidade de síntese em alguma organela. As GAs também podem ser sintetizadas nas raízes.

Em plantas, as GAs são sintetizadas pela rota dos *terpenóides*. As GAs são diterpenos tetracíclicos, compostos por unidades básicas pentacarbonadas de isopreno. O composto *precursor* da biossíntese das GAs é o *ácido mevalônico*



(outros fitormônios e diferentes compostos do metabolismo vegetal também têm o ácido mevalônico como precursor). O ácido mevalônico, por sua vez, origina o *geranyl-geranyl difosfato*, que, então, forma o *ent-caureno*, molécula que após diferentes transformações origina a giberelina 12 ( $GA_{12}$ ), *molécula precursora de todas as demais GAs*, através de processos que envolvem reações de oxidação e de hidroxilação. A estrutura básica das giberelinas é uma estrutura química conhecida como esqueleto *ent-giberelano*, o que facilita a identificação de qualquer giberelina pela sua estrutura peculiar. A posição das hidroxilas na estrutura *ent-giberelano* tem forte influência na sua atividade biológica. A hidroxilação do carbono 2 na configuração  $\beta$  (acima do plano) elimina a atividade biológica das giberelinas. De modo similar às auxinas, as GAs também podem apresentar formas livres ou se conjugar com açúcares ou com outras moléculas, tornando-se reversível, temporária ou permanentemente inativas. As GAs também podem sofrer compartimentação (armazenamento), além de catabolismo enzimático.

Embora frequentemente se discuta a ação dos hormônios como se eles agissem de modo independente, as inter-relações do C&D vegetal resultam da combinação de sinais múltiplos. Além disso, um hormônio pode influenciar na biossíntese do outro, de modo que os efeitos produzidos por um hormônio pode ser, de fato, mediado por outros. Atualmente, sabe-se que as giberelinas podem induzir a síntese de auxinas e vice-versa. Quando plantas de ervilha são decapitadas, ocasionando a interrupção no alongamento do caule, não somente os níveis das auxinas que são reduzidos, pois a sua fonte foi removida, mas também os níveis do  $GA_1$  na parte superior do caule diminuem drasticamente. Essa mudança parece ser devida às auxinas, pois a reposição da gema ou o suprimento de auxinas restaura os níveis do  $GA_1$ . O AIA promove a transcrição da enzima *GA-3 $\beta$ -hidroxilase*, formando a  $GA_1$  e diminui a produção da *GA2-oxidase*, enzima que degrada a  $GA_1$ . O aumento da atividade da *GA-3 $\beta$ -hidroxilase*, em resposta ao AIA, é percebido 2 horas após a aplicação dessa auxina.

Os mecanismos de ação das GAs envolvem aumentos na *divisão* e no *alongamento* celular, aumentos nas mitoses nos meristemas subapicais e aumentos na extensibilidade da parede celular. Todavia, o alongamento celular estimulado pelas GAs não envolve a acidificação da parede, conforme ocorre com as auxinas (*teoria do crescimento ácido*). As GAs também estimulam a transcrição de quinases do ciclo celular nos meristemas intercalares das gramíneas, o que parece contribuir para o seu alongamento.

Os *Retardantes de Crescimento* correspondem a todos os compostos químicos que reduzem a divisão e o alongamento celular em tecidos de brotos e regula as plantas superiores fisiologicamente, sem interromper o seu desenvolvimento. Os *retardantes de crescimento* são substâncias que inibem a síntese dos terpenóides e, portanto, inibem a síntese das GAs. Essas substâncias têm sido utilizadas para amenizar o crescimento das plantas (porte), reduzindo, por exemplo, a frequência de podas e evitando problemas com as redes elétricas. Também são utilizadas para evitar o acamamento das plantas. Os principais compostos utilizados como retardantes de crescimento são o Cicocel (CCC), o Amo-1618 e o Paclobutrazol (Bonzi).

### **Efeitos Biológicos das Giberelinas:**

#### Alongamento:

As GAs são os principais fitormônios relacionados ao porte (tamanho) das plantas. Elas promovem o alongamento em plantas intactas normais e, principalmente, em plantas de porte baixo (plantas anãs).

#### Modificações na juvenilidade:

As GAs podem reverter plantas fisiologicamente adultas ao estágio de juvenilidade. Plantas de hera (*Hedera helix*) reverterem de “maduras” para juvenis com a aplicação de  $GA_3$ . Em contraste, coníferas (*Pinus elioti*, *Sequoia sempervirens*) apresentam redução da duração da juvenilidade em resposta à aplicação das GAs.

#### Produção de flores masculinas:

Normalmente, as plantas de abóbora (*Curcubita bepo*) produzem muitas flores femininas e poucas masculinas, o que dificulta a polinização. A aplicação de GAs aumenta a produção de flores masculinas.

#### Estabelecimento e crescimento de frutos:

As GAs, juntamente com as auxinas e as citocininas, estão intimamente relacionadas ao estabelecimento e ao crescimento de frutos, o que ocorre pela produção e liberação de GAs a partir dos grãos de pólen e das sementes.

#### Produção de frutos partenocárpicos:

As GAs, bem como as auxinas, podem proporcionar a formação de frutos partenocárpicos (frutos sem sementes), cuja polinização pode até ter ocorrido, mas que não foram fertilizados (sem fusão de gametas). As GAs apresentam vantagens em relação às auxinas por não estimularem a formação do etileno, fitormônio que

pode causar a senescência e abscisão. A aplicação de GAs para a indução de partenocarpia em uva (passas) é bastante conveniente e apresenta menores riscos.

#### *Indução de germinação:*

As sementes são os órgãos onde as GAs mais se concentram. As GAs estão envolvidas na germinação das sementes, principalmente nos cereais, contribuindo para a síntese das enzimas hidrolíticas a partir da camada de aleurona, especialmente da  $\alpha$ -amilase.

#### *Alongamento de ramos:*

A GA<sub>1</sub> endógena regula o alongamento dos ramos. Essa giberelina encontra-se presente durante estágios jovens de desenvolvimento. A GA<sub>1</sub> apresenta a GA<sub>20</sub> como precursora. Todavia, algumas plantas crescem bastante na ausência da GA<sub>1</sub>. O fotoperíodo pode regular o metabolismo das giberelinas, sendo que dias longos geralmente estimulam a sua produção.

#### *Uso Comercial:*

As GAs apresentam diversas aplicações práticas em agricultura e biologia, com destaque para produção de frutos partenocárpicos (uva), aumento da produção em cana-de-açúcar (aumento no tamanho dos internódios), florescimento precoce (redução da juvenildade) em coníferas, indução de partenocarpia, aumento no rendimento do processo de fabricação da cerveja (produção do malte) e germinação de sementes (espécies selvagens; quebra de dormência), dentre outros.

#### **Citocininas:**

As citocininas foram descobertas como resultado de estudos relacionados ao controle da divisão celular e organogênese. Os fitormônios até então conhecidos, auxinas e giberelinas, não permitiam o controle adequado desses processos. O fisiologista austríaco Gottlieb Haberlandt (1931) foi o primeiro a propor que substâncias difusíveis estariam ligadas ao processo de divisão celular. Naquela época, ele demonstrou que “substâncias” solúveis em água transportadas nos tecidos vasculares (xilema) podiam estimular a divisão celular em tecidos lesionados de tubérculos de batata. Até a descoberta das citocininas, diferentes substâncias foram testadas visando manter a proliferação de tecidos caulinares em cultura. Extratos de leveduras e de suco de tomate apresentaram efeitos positivos para algumas culturas. Um grande avanço ocorreu quando, em 1941, Johannes van Overbeek descobriu que a água de coco (endosperma líquido do coco) continha um potente “fator de crescimento”, diferente das substâncias estimuladoras

conhecidas até então. Percebeu-se que esse *fator*, associado ou não a uma auxina, acelerava o desenvolvimento de embriões de plantas e promovia o crescimento de tecidos isolados, assim como de células em tubos de ensaio. O meio de White, suplementado com uma auxina e com 10 a 20% de água de coco é capaz de manter divisão contínua em células maduras e diferenciadas de diferentes espécies. A padronização da concentração desse “fator de crescimento” é o principal problema para a utilização da água de coco. Além disso, a identidade dessa substância, correspondente à citocinina natural *zeatina*, encontrada em concentrações elevadas em endospermas imaturos de sementes de milho, somente foi elucidada por Letham, em 1974, muito depois da descoberta das citocininas sintéticas.

Nas décadas de 40 e 50 Folke Skoog e colaboradores testaram diversas substâncias em busca de alguma que pudesse estimular a divisão celular e, em associação às auxinas, controlar a organogênese em tecidos de plantas. Em uma dessas tentativas, o grupo de Skoog utilizou *esperma envelhecido* de arenque, uma espécie de peixe encontrada nas águas temperadas e rasas do Atlântico Norte, do Mar Báltico, do Pacífico Norte e do Mediterrâneo. O material estava em um frasco “esquecido” há bastante tempo no laboratório. Para surpresa geral, o material apresentou comportamento promissor, estimulando a divisão celular em tecidos de medula de tabaco. Eles, então, passaram a autoclavar o esperma do arenque, verificando que os efeitos de promoção na divisão celular também se manifestava com esse material. Após a divulgação dos resultados dos trabalhos realizados pelo grupo de Skoog & Miller e com a participação de outros colaboradores, em 1955 foi identificada no esperma autoclavado uma pequena molécula, a *6-furfuril amino purina* ou *cinetina*, conforme passou a ser denominada. Essa substância sintética é derivada da adenina (aminopurina), sendo formada em decorrência da quebra ou da degradação do DNA provocada pelo aquecimento (autoclavagem) e/ou envelhecimento. Todavia, a descoberta da cinetina e dos seus efeitos sugeriu a ocorrência natural de moléculas com estruturas similares e envolvidas na regulação da atividade de divisão celular nos vegetais. Essa hipótese foi posteriormente confirmada com a descoberta da *Zeatina* e de outras citocininas naturais. As principais citocininas naturais são a *Zeatina* (ZEA), a *Ribosil-zeatina* (ou *zeatina ribosídica* = ZR), a *2-isopentenil adenosina* (2-IP) e a *6-(3-hidroxibenzilamino-purina* (meta-topolino). Dentre as citocininas sintéticas, as mais conhecidas são a *6-Benzil-Amino-Purina* (BAP), a *cinetina*, *difenil ureia* e o *Thidiazuron* (TDZ).



### ***Biossíntese das Citocininas:***

As citocininas são substâncias quimicamente relacionadas às mesmas rotas de biossíntese dos terpenóides, dos pigmentos carotenóides, das giberelinas, do ácido abscísico, das fitoalexinas e do látex. Todas essas substâncias são derivadas do isopreno, tendo o *ácido mevalônico* como *precursor*. As citocininas também podem se encontrar na forma livre (ativa) ou na forma conjugada (temporária e reversivelmente inativa). Elas também estão relacionadas ao RNA transportador, conferindo atividade citocinínica a esse nucleotídeo. Os principais *locais de síntese* das citocininas são os *meristemas apicais das raízes*. O *transporte* das citocininas para a parte aérea ocorre através da corrente transpiratória, *via xilema*. Em função disso, caules decapitados exsudam citocininas em resposta à pressão radicular.

Algumas bactérias também são capazes de sintetizar citocininas. A bactéria *Agrobacterium tumefaciens*, muito utilizada na transformação genética de plantas, possui a capacidade de transferir o seu DNA extra-cromossomal, o plasmídeo-Ti, para o DNA dos tecidos de algumas plantas. As bactérias infectam tecidos localizados no colo das plantas e modificam geneticamente os tecidos dessa região, formando um tumor conhecido como “galha da coroa” ou “galha do colo”. Esses tumores são formados em resposta à ação de genes que codificam para citocininas (*trans-zeatina* e *cis-zeatina* e seus *ribosídeos*). Esses genes são transferidos pelos plasmídeos das bactérias, alterando geneticamente o DNA dos tecidos da planta que passam a super-expressar os genes para a síntese de citocininas, causando proliferação celular excessiva. Esses tecidos das galhas podem ser “curados” da presença da bactéria através de termoterapia. Quando cultivados *in vitro* em ausência de citocininas eles apresentam divisão celular e a organogênese pode ser controlada pela adição de auxinas, o que evidencia que os tecidos foram geneticamente modificados, tornando-se citocinina-autotróficos.

### **Efeitos Biológicos das Citocininas:**

#### ***Indução de divisão celular:***

A presença de citocininas estimula a divisão celular dos meristemas da parte aérea e das raízes.

#### ***Controle da morfogênese in vitro:***

Em associação com as auxinas, as citocininas podem controlar o processo de organogênese. A razão auxina/citocinina define a formação de raízes, de parte aérea ou de ambos.

### ***Atraso na senescência:***

Tecidos tratados com citocininas apresentam atraso na senescência o que ficou conhecido como *Efeito Richmond & Lang*. Embora a aplicação de citocininas não evite por completo a senescência, seus efeitos podem ser drásticos, sobretudo quando a citocinina é pulverizada sobre a planta intacta. Se uma única folha for tratada, esta permanece verde depois de que outras folhas, de idade e desenvolvimento semelhantes, tenham amarelado e sofrido abscisão. Mesmo um pequeno ponto em uma folha permanece verde se tratado com uma citocinina após os tecidos adjacentes terem iniciado a senescência. Folhas maduras, ao contrário de folhas jovens, produzem pouca ou nenhuma citocinina, dependendo de citocininas produzidas nas raízes para adiar a sua senescência.

#### ***Modificação da dominância apical:***

As citocininas podem quebrar a dominância apical exercida pelas auxinas e estimular o crescimento das gemas laterais.

#### ***Estímulo à mobilização de nutrientes:***

As citocininas liberadas pelas sementes aumentam a força de dreno nos frutos.

#### ***Maturação de cloroplastos:***

As citocininas estimulam a síntese de proteínas fotossintéticas e dos pigmentos, bem como o desenvolvimento dos grana nos cloroplastos.

#### ***Regulação de síntese protéica:***

As citocininas contribuem para a regulação da síntese protéica ao nível de transcrição e de tradução.

#### ***Regulação da concentração citossólica de Ca<sup>2+</sup>:***

A manutenção da concentração citossólica do Ca<sup>2+</sup> (mensageiro secundário) é fundamental para a homeostase celular. As citocininas apresentam papel importante nesse controle.

### ***Etileno:***

Os efeitos típicos do etileno em plantas foram notados a partir de observações realizadas ainda no século XIX. Árvores que cresciam próximas a lampiões a gás proveniente de queima de carvão apresentavam intensa desfolhação, o que não era observado em árvores das mesmas espécies crescendo afastadas da fumaça desses lampiões. Em 1901, Dimitry Neljubov, um pesquisador russo, observou que plantas de ervilha crescidas no escuro, em um laboratório fechado, apresentavam sintomas estranhos, que mais tarde foram denominados

*resposta triplíce do etileno*. As plantas apresentavam redução no crescimento dos caules, aumento do crescimento em espessura e crescimento horizontal anormal. Neljubov observou, ainda, que esses sintomas desapareciam quando o ambiente de cultivo tinha sua atmosfera ventilada e trocada por ar puro. Ele associou o gás (fumaça) do carvão queimado nos lampiões no ambiente do laboratório como a provável “substância” causadora da resposta.

O primeiro relato associando o etileno como um produto natural de plantas foi feito em 1910, por H.H. Cousins. Ele observou que “emanações” provenientes de laranjas armazenadas em uma câmara provocavam o amadurecimento em bananas, cujo efeito era semelhante ao da aplicação de auxinas. Todavia, como laranjas não produzem muito etileno, possivelmente elas encontravam-se infectadas com o fungo *Penicillium*, organismo produtor de grandes quantidades desse gás. Em 1934, R. Gane e colaboradores identificaram quimicamente o etileno como um produto de natureza gasosa e natural do metabolismo vegetal, que, devido aos seus efeitos drásticos sobre as plantas, foi classificado como um fitormônio. Durante 25 anos o etileno não foi reconhecido como hormônio em decorrência de sua atividade muito similar à atividade das auxinas. No entanto, após a introdução da cromatografia gasosa na pesquisa do etileno, em 1959, a importância desse fitormônio foi redescoberta e seu significado fisiológico como regulador do crescimento vegetal, definitivamente reconhecido. A molécula desse importante fitormônio de natureza gasosa é extremamente simples ( $H_2C=CH_2$ ) se comparada às moléculas de outros fitormônios e, principalmente, com as moléculas dos hormônios dos animais. O etileno é a mais simples olefina conhecida (as olefinas são hidrocarboneto alifático de cadeia aberta, apresentando pelo menos uma dupla-ligação; alifático se refere a moléculas que não contém anéis aromáticos). A sua molécula apresenta peso molecular 28 sendo, sob condições fisiológicas, mais leve do que o ar.

#### **Biossíntese e Catabolismo do etileno:**

A via de biossíntese do etileno tem início com a participação do aminoácido *metionina*. A *metionina* é transformada em *S-Adenosil-Metionina (SAM)*, que por sua vez é transformado em *Ácido Carboxílico Amino-Ciclo-Propano (ACC)* pela enzima *ACCsintase*. O *ACC*, então, é convertido em *etileno* pela ação da enzima *ACCoxidase (Enzima Formadora de Etileno = EFE)*.

A etapa de conversão do SAM em ACC é estimulada por diversos fatores e por outros agentes, com destaque para frutos em maturação ou em senescência,

flores senescentes, AIA (auxinas), danos mecânicos, injúrias por resfriamento (*chilling*), estresse hídrico e alagamento. A etapa de conversão do ACC em etileno é estimulada por diferentes fatores, principalmente por tecidos ou órgãos (frutos) em maturação. Em contraste, a conversão do SAM em ACC é inibida por *Amino-Etoxi-Vinil-Glicina (AVG)* e pelo *Ácido Aminoxi-Acético (AOA)*, ambos sintéticos. Já a conversão do ACC em etileno é inibida por anaerobiose e por desacopladores, o que demonstra a necessidade de oxigênio para a reação, por  $Co^{2+}$ , pelo ácido salicílico, um análogo ao ácido acetil salicílico, e por temperaturas superiores a  $35^{\circ}C$ .

Frutos em amadurecimento apresentam aumento dos níveis de etileno, do ACC e da EFE. O fornecimento de ACC a frutos verdes causa um ligeiro aumento da sua maturação, o que sugere ser a ativação da EFE a etapa crítica da biossíntese. Sob condições de estresses ambientais (seca, inundação, dano mecânico, *chilling*, etc.), o etileno é sintetizado pela rota normal, a partir da metionina. O  $AgNO_3$  inibe a ação do etileno nos tecidos das zonas (ou camadas) de abscisão. Por sua vez, o  $CO_2$  compete na atmosfera com o etileno (2-3% de  $CO_2$  expulsa o etileno), sendo, em função disso, utilizado em câmaras frigoríficas para aumentar o tempo de conservação em pós-colheita de frutos, flores e hortaliças. O permanganato de potássio ( $KMnO_4$ ), aplicado na forma de sachês (10-80g), é um absorvente eficiente do etileno podendo reduzir de 250 para  $10 \mu L L^{-1}$  a concentração desse hormônio em câmaras de armazenamento de maçãs, aumentando o tempo de estocagem desses frutos.

Todos os órgãos das plantas produzem etileno. Todavia, tecidos em senescência e frutos maduros apresentam maior produção. As folhas em expansão produzem mais do que as maduras. Tecidos feridos apresentam aumento na produção de etileno 25-30 min após o ferimento. Pela sua natureza gasosa, o etileno sofre difusão no ambiente e pelos espaços intercelulares. Bactérias, fungos e todos os órgãos das plantas produzem etileno.

O etileno é uma molécula inflamável. O seu catabolismo corre devido a sua rápida oxidação à óxido-etileno ou em decorrência de sua hidrólise à etileno-glicol. Em muitos tecidos o etileno pode ser completamente oxidado a dióxido de carbono. O etileno também pode se apresentar na forma conjugada (etileno-glicol-glicose), perdendo momentaneamente atividade biológica.



### **Efeitos Biológicos do Etileno:**

#### Expansão lateral de células:

Uma das respostas tríplices do etileno é a expansão celular lateral. Na presença de etileno, o padrão transversal de alinhamento dos *microtúbulos* é alterado para uma orientação longitudinal. Essa mudança de 90° no ângulo de orientação dos microtúbulos leva a uma deposição paralela das microfibrilas de celulose. O novo depósito da parede é reforçado mais na direção longitudinal do que na direção transversal, promovendo a expansão lateral em vez de alongamento.

#### Amadurecimento de frutos:

O etileno é o principal fitormônio envolvido na maturação de *frutos climatéricos*, frutos esses que *amadurecem após a colheita* mesmo se apanhados ainda *verdes*. Como exemplos de frutos climatéricos podem ser incluídos a banana, a maçã, o abacate, o caqui, a pêra e a goiaba, dentre outros. Esses frutos, além de *responderem à aplicação exógena de etileno ou de seus análogos, também produzem quantidades consideráveis desse gás durante a maturação*. O aumento na produção do etileno durante a maturação de frutos climatéricos coincide com o aumento na taxa respiratória (pico climatérico). Todavia, alguns frutos não apresentam essa resposta ao etileno e nem o produzem em quantidade elevada. Esses frutos, denominados *não-climatéricos*, não podem ser colhidos verdes. Como exemplos de frutos não-climatéricos podemos destacar o abacaxi, a uva e as espécies cítricas (laranja, limão, limas, mexericas, etc.).

Em sistemas de maturação artificial de frutos tem sido empregada uma substância análoga ao etileno, o acetileno ( $\text{HC}\equiv\text{CH}$ ), produzido a partir do carbureto de cálcio que, ao ser hidratado, libera esse gás ( $\text{CaC}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HC}\equiv\text{CH}^\uparrow + \text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Quando se utiliza carbureto, em excesso, o acetileno produzido pode provocar a maturação intensa e rápida da casca sem a completa maturação da polpa (maturação forçada), o que prejudica a qualidade do produto para o consumo bem como a sua durabilidade em pós-colheita. Esse fato é muito comum em procedimentos de maturação “forçada” de bananas, cujas cascas podem ficar completamente amarelas (aspecto maduro), embora a polpa ainda permaneça verde (“apertando”).

#### Senescência e Abscisão:

Os efeitos do etileno na senescência estão relacionados ao estímulo à produção de enzimas hidrolíticas bem como de espécies reativas de oxigênio (radicais livres), que afetam todo o metabolismo causando danos às células, tecidos

e órgãos. O etileno é o principal fitormônio envolvido na abscisão (queda) de folhas, frutos, flores e de outros órgãos. Ao contrário do que se acreditou inicialmente, o ácido abscísico não está envolvido na abscisão da maioria dos órgãos, como veremos mais a frente. O etileno está envolvido na formação da camada de abscisão em pecíolos de folhas e em pedúnculos da maioria das flores e de frutos.

#### Epinastia e Hiponastia:

Esses dois movimentos de crescimento são relacionados às auxinas, mas o etileno também os promove. Na verdade, os efeitos são mais relacionados ao etileno do que às auxinas, que somente estimulam a síntese do etileno.

#### Dormência de sementes e gemas:

Algumas espécies apresentam sementes dormentes em função da presença de etileno em seu endosperma. A retirada da casca (escarificação) permite a sua liberação e a germinação das sementes. O fogo também pode agir na quebra da dormência de sementes. Outras espécies são estimuladas a germinarem pela ação do etileno, como ocorre com o amendoim, por exemplo.

#### Florescimento:

O etileno e as auxinas (em excesso por induzirem a síntese do etileno) estão envolvidos na floração de plantas de manga, de espécies do cerrado (fogo) e, principalmente, de espécies de Bromeliaceae (abacaxi e bromélias ornamentais).

#### Mudança de sexo em flores:

O etileno está associado à produção de flores femininas em algumas espécies de plantas.

#### Formação de Pêlos Radiculares:

A formação de raízes adventícias em algumas espécies pode ser induzida por etileno, embora as auxinas estimulem esse processo de modo mais eficiente. As auxinas, quando em baixa concentração, estimulam o enraizamento, mas em excesso inibem o alongamento das raízes, o que está relacionado ao aumento na produção do etileno.

#### Abertura do Gancho Plumular:

A abertura do gancho plumular em eudicotiledôneas com germinação epígea está intimamente relacionada à produção do etileno nos tecidos do gancho. A luz vermelha induz a abertura do gancho plumular e a luz vermelho-distante reverte o efeito da primeira, indicando que o fitocromo é o fotorreceptor envolvido no processo. Existe uma estreita relação entre o fitocromo e o etileno no controle da abertura do gancho. O etileno produzido pelo tecido do gancho, mantido no escuro, inibe o alongamento das células do lado interno. A luz vermelha inibe a

formação do etileno, promovendo o crescimento do lado interno e causando a abertura do gancho. Mutantes auxina-insensíveis (*axr1*) e o tratamento de plantas selvagens com NPA, um inibidor do transporte de auxinas, não apresentam abertura do gancho plumular em *Arabidopsis*, indicando a participação das auxinas na resposta.

#### Formação de Aerênquima e Alongamento em Espécies Aquáticas:

O etileno está envolvido na formação dos aerênquimas em espécies aquáticas e pode estimular o alongamento dos caules, como em *Ranunculus sceleratus*, por exemplo.

#### **Utilização Comercial do Etileno:**

O uso comercial do etileno puro, pela sua natureza gasosa, é de aplicação limitada (somente em ambientes fechados), além de ser muito oneroso. Utiliza-se, então, uma substância geradora de etileno, o ácido 2-cloro-etil-fosfônico (ethephon), conhecido comercialmente como Ethrel®. O ethephon, pulverizado na forma líquida, libera etileno ao penetrar em compartimentos com pH básico. Um exemplo da utilização comercial do etileno pode ser observado em lavouras de algodão. Quando o ethephon é pulverizado nas plantas, o etileno produzido causa a abscisão das folhas, facilitando a colheita dos frutos (capulho), melhorando a qualidade das fibras. O ethephon também pode ser utilizado para a indução da maturação de frutos, podendo ser substituído por auxinas, que, em concentrações elevadas, também aumentam a síntese de etileno.

#### **Ácido Abscísico:**

Sabe-se que em certos momentos, a sobrevivência de uma planta depende da sua habilidade em restringir o crescimento ou suas atividades reprodutivas. Em 1949, Philip F. Wareing (Inglaterra) descobriu que gemas dormentes de falso-plátano (*Acer pseudoplatanus*) continham grandes quantidades de um inibidor de crescimento, o qual ele denominou *dorminas*. Durante a década de 60, Frederick T. Addicott (EUA, 1963) divulgou a descoberta de uma substância presente em frutos de algodão, capaz de acelerar a sua abscisão. A substância responsável pela resposta foi denominada *abscisina II*. Na mesma época, R.F.M Van Steveninck, estudando compostos que causavam o aceleração da abscisão de flores e de frutos de lupino amarelo (*Lupinus luteus*), encontrou uma substância similar à *abscisina II* identificada por Addicott. Após estudos, em 1964, concluiu-se que a *abscisina II* e as *dorminas* eram substâncias quimicamente idênticas. A partir de

1967, essas substâncias passaram a ser denominadas *Ácido Abscísico* (ABA). A escolha deste nome, porém, mostrou-se equivocada, pois se descobriu que não existe uma ação tão específica do ABA sobre a abscisão da maior parte dos órgãos vegetais, cujo controle está muito mais associado ao *etileno*. Todavia, surpreendentemente, essa denominação permanece até os dias atuais. Em algas, não há produção de ABA, sendo o ácido lunárico um análogo fisiológico desse fitormônio.

#### **Biossíntese do Ácido Abscísico:**

A biossíntese desse composto (ABA) também ocorre a partir do *ácido mevalônico*. O início da rota de biossíntese do ABA é o mesmo utilizado para a síntese de outros fitormônios (giberelinas e citocininas). Existem duas rotas conhecidas para biossíntese do ABA: a rota direta e a indireta. A primeira (*direta*) ocorre a partir do *farnesil pirofosfato* e a segunda (*indireta*), a partir da *violaxantina*, um importante carotenóide (xantofila). A via de biossíntese *indireta* é, atualmente, considerada *principal*. A síntese de ABA ocorre em cloroplastos e em amiloplastos. O ABA também pode se apresentar na forma conjugada (*ABA-β-D-glicosil-éster*), perdendo atividade biológica momentânea (reversível). O ABA é transportado nos dois sistemas vasculares, embora predomine na seiva xilemática.

A atividade biológica do ABA é determinada pela estrutura química do ácido. A orientação do grupo carboxila no carbono 2 determina os isômeros *cis* e *trans* do ABA. Quase todo o ABA que ocorre naturalmente está na forma *cis* e, por convenção, o nome ácido abscísico refere-se a esse isômero. ABA também possui um átomo de carbono assimétrico na posição 1' no anel, resultando nos enantiômeros **S** e **R** (ou + e -, respectivamente). O enantiômero **S (+)** é a forma natural. O ABA sintético comercialmente disponível é uma mistura de quantidades aproximadamente iguais das formas **S** e **R**. O enantiômero **S** é o único ativo em respostas rápidas ao ABA, como o fechamento dos estômatos. Em respostas de longo prazo, como a maturação de sementes, tolerância à dessecação, ao frio, a temperaturas elevadas, etc, ambos os enantiômeros estão ativos. Em contraste com os isômeros *cis* e *trans*, as formas **S** e **R** não podem ser interconvertidas nos tecidos das plantas. Os produtos do catabolismo do ABA (ácido faséico e ácido dihidrofaséico) são biologicamente inativos.



## **Efeitos Biológicos do ABA:**

### Dormência de gemas:

O ABA é o principal fitormônio envolvido na dormência das gemas em plantas de clima temperado. Temperaturas baixas e redução do fotoperíodo estimulam a sua biossíntese. O ABA é considerado o hormônio da dormência. O balanço entre inibidores (ABA) e promotores (citocininas, auxinas e giberelinas) de crescimento é que define a entrada e/ou a saída da dormência.

### Dormência de sementes:

O ABA é o principal fitormônio envolvido na dormência das sementes. Sementes dormentes secas apresentam altas concentrações de ABA. A aplicação de ABA exógeno inibe a germinação e induz dormência em sementes não-dormentes. O ABA inibe a síntese de enzimas hidrolíticas essenciais à quebra de reservas (papel central), especialmente da  $\alpha$ -amilase. Em decorrência disso, o ABA é responsável pela inibição da germinação precoce das sementes. Em sementes de espécies deficientes em ABA, como o feijão e em variedades mutantes de milho (*vp14*), pode ocorrer germinação em pré-colheita nas épocas úmidas. Tal fato resulta em perdas na produção. Mutantes vivíparos de milho deficientes em ABA germinam intensamente quando as sementes ainda estão nas espigas.

### Fechamento de estômatos:

O ABA é o principal fitormônio envolvido no fechamento hidroativo dos estômatos, promovendo a perda de  $\text{Cl}^-$  e de  $\text{K}^+$ , além de interferir na atividade da  $\text{H}^+$ -ATPase. Os estômatos somente reabrem após o completo catabolismo do ABA nas células guarda (transformação do ABA em ácido faséico ou em ácido dihidrofaséico).

### Absorção de água:

Ao mesmo tempo em que o ABA reduz a perda de água através do fechamento dos estômatos, ele aumenta a condutividade hidráulica das raízes, aumentando a capacidade de rehidratação.

### Crescimento:

O ABA inibe o crescimento celular pela sua atuação na atividade da  $\text{H}^+$ -ATPase, inibindo a acidificação da parede e, conseqüentemente, a formação dos *fatores de afrouxamento da parede*. O ABA, sob condições de estresse hídrico, inibe o crescimento da parte aérea e estimula o crescimento das raízes.

### Senescência e Abscisão:

A contribuição do ABA para a abscisão é restrita a poucas espécies. O etileno apresenta efeito mais amplo sobre o processo de abscisão. Na senescência,

o ABA apresenta papel fundamental, embora esta também esteja associada ao etileno. Em órgãos senescentes, o ABA acelera o processo. As citocininas apresentam efeito contrário, revertendo os efeitos do ABA.

### Acúmulo de Reservas e Tolerância à Dessecação em Sementes:

Compostos de reserva são acumulados durante as fases intermediária e tardia da embriogênese. Como os níveis do ABA encontram-se elevados nessas fases, acredita-se que o ABA possa afetar a translocação de açúcares e de aminoácidos e/ou a síntese de materiais de reserva. Algumas proteínas conhecidas como proteínas LEA (*Late Embryogenesis Abundant = Proteínas Abundantes da Embriogênese Tardia*) estão diretamente associadas à tolerância à dessecação apresentada pelas sementes ortodoxas. Essas proteínas são sintetizadas por estímulo do ABA e desaparecem logo após a germinação, fazendo com que as plântulas não apresentem a mesma tolerância à dessecação que as sementes.

### Síntese de Proteínas:

O ABA é o principal hormônio responsável pela síntese de enzimas relacionadas à tolerância das plantas a diferentes tipos de estresses ambientais. Pelo seu caráter adaptativo, o ABA é denominado o "*hormônio dos estresses*". O ABA é responsável pela produção de proteínas que conferem às plantas tolerância às temperaturas baixas e elevadas, aos solos salinos e ao estresse hídrico, dentre outros.

## **Outras Substâncias Relacionadas ao Crescimento e Desenvolvimento Vegetal:**

Alguns compostos em função de não atenderem aos critérios de definição das substâncias de natureza hormonal bem como pela sua descoberta e/ou identificação mais recente não constituem grupos hormonais e nem fazem parte do grupo dos cinco fitormônios clássicos (auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico). Todavia, alguns deles apresentam controle sobre o crescimento e desenvolvimento dos vegetais. Eles são separados em dois grupos: substâncias inibidoras e substâncias promotoras do crescimento e desenvolvimento vegetal.

### **Substâncias Inibidoras:**

#### **Ácido Lunárico:**

O ácido lunárico encontra-se presente em gemas inibindo o seu desenvolvimento. Esse ácido tem a sua concentração aumentada por dias longos, sendo a sua concentração reduzida em dias curtos. O ácido lunárico é encontrado

principalmente em criptógamas e em algas. Nesses grupos vegetais, os efeitos do ácido lunárico são análogos aos do ABA.

#### **Batasinas:**

São compostos encontrados em bulbilhos de *Discorea batatus*. As batasinas causam dormência nos bulbilhos. Temperaturas baixas geralmente reduzem a sua concentração.

#### **Ácido Jasmônico e Metil Jasmonato:**

São substâncias que conferem o cheiro característico do jasmim, sendo componente da fragrância de seu perfume. Não é um gás, mas é volátil, especialmente o metil-jasmonato. São sintetizados a partir do ácido linoléico, pela ação da enzima *lipoxigenase*. Inibem o crescimento de certos órgãos e causam senescência. Contribuem para o mecanismo de defesa contra herbivoria, participando da cadeia de eventos que resultam na produção dos inibidores de proteases, terpenos e alcalóides, substâncias que dificultam a digestão em animais, reduzindo a capacidade de consumo dos órgãos da planta e, conseqüentemente, os danos por herbivoria.

#### **Substâncias Promotoras:**

##### **Triacontanol:**

O triacontanol é um álcool primário saturado com 30 carbonos. Essa substância foi isolada inicialmente de plantas de alfafa. Apresenta baixa solubilidade em água (menos de  $9 \cdot 10^{-4}$  g L<sup>-1</sup>). Suspensões coloidais contendo triacontanol, em concentração abaixo de  $0,1 \cdot 10^{-9}$  g L<sup>-1</sup>, aumentam o crescimento em plantas de milho, tomate e arroz. Plantas de milho e arroz mostram crescimento intenso 10 min após aplicação foliar de triacontanol na forma de pulverização. Os mecanismos de ação do triacontanol são desconhecidos. Essa substância apresenta grande potencial para uso comercial como promotora de crescimento.

##### **Brassinas ou Brasinosteróides:**

Até o momento, as brassinas são os únicos hormônios vegetais pertencentes à classe dos esteróides (classe típica dos hormônios dos animais). Essas substâncias foram isoladas inicialmente em grãos de pólen de *Brassica napus* (um dos componentes do óleo de canola), sendo derivadas dos lipídios. Elas apresentam efeitos no crescimento das plantas e aumentam a sensibilidade dos tecidos às auxinas.

#### **Ácido Salicílico:**

O ácido salicílico é uma molécula análoga ao ingrediente ativo (ácido acetil salicílico) de diversos antitérmicos como a aspirina, AAS, etc. O ácido salicílico está envolvido no processo da termogenia (oxidase alternativa da respiração) e na resistência ao vírus do mosaico do fumo (TMV). É um inibidor da síntese do etileno (podendo ser usado para aumentar a durabilidade em pós-colheita de flores em jarros). É um dos principais componentes do mecanismo de *resistência sistêmica adquirida*, em que um único ataque de um patógeno pode tornar a planta mais resistente a ataques subsequentes.

#### **Turgorinas:**

São moléculas responsáveis pelo controle dos movimentos periódicos em plantas (movimentos náuticos). Esses movimentos estão relacionados à turgescência das células dos pulvinos, estruturas localizadas em regiões específicas de folhas e os folíolos, especialmente em leguminosas.

O “Fator Ricca” foi isolado de pulvinos de folhas de *Mimosa pudica* e de *Acacia*. Plantas de *Mimosa pudica* (sensitiva) apresentam os fenômenos de sisonastimo (toque) e nictinastimo (fechamento noturno) nos seus folíolos. Plantas de *Acacia* apresentam apenas o fenômeno de nictinastimo (fechamento noturno) nos seus folíolos. Os fatores relacionados a esses movimentos foram denominados “fatores de movimentos periódicos em folhas” (BLMF’s, em inglês). Alguns deles foram isolados e receberam a denominação de BLMF1, BLMF7 (em *Mimosa*). Posteriormente, tal como previamente observado em *Acacia*, foi verificado que esses BLMF’s são  $\beta$ -glicosídeos do ácido gálico. Atualmente, os BLMFs são denominados, genericamente, turgorinas.

#### **Poliaminas:**

As poliaminas são cátions polivalentes apresentando dois ou mais grupamentos amina. Elas podem ser encontradas livres ou ligadas a compostos fenólicos (ácido caféico e ácido cumárico). Ao contrário dos demais fitormônios que atuam em concentrações micromolares ( $10^{-6}$  M), as poliaminas atuam em concentrações mais elevadas, na faixa milimolar ( $10^{-3}$  M) e apresentam baixa mobilidade. Portanto, as poliaminas não atendem a duas condições fundamentais utilizadas para a caracterização dos fitohormônios. As principais poliaminas são a putrescina, a cadaverina, a espermina e a espermidina, além dos aminoácidos arginina e lisina, que também são poliaminas.

Os principais efeitos biológicos das poliaminas são a promoção da divisão celular, a contribuição para a estabilidade das membranas, a promoção do



crescimento e desenvolvimento dos frutos, a redução dos efeitos prejudiciais do estresse hídrico e o atraso na senescência em folhas destacadas, dentre outros.



# FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA



## **8. A FORÇA DO MOVIMENTO EM PLANTAS:**

A publicação por Charles Darwin, em 1881, do livro *The Power of Movement in Plants* (A Força do Movimento em Plantas) apresentou resultados de observações e de experimentos relacionadas aos movimentos apresentados por ramos, raízes e folhas em respostas a variações na orientação (posição), na incidência ou não de radiação luminosa e à eliminação de porções desses tecidos, dentre outros. Partes dessas respostas estão associadas à ação específica de fitormônios e de seus efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. O ambiente, em alguns casos, é o condicionador da orientação desses movimentos.

Os seres vivos precisam regular suas atividades de acordo com o mundo ao seu redor. Uma vez que as plantas terrestres são sésseis, elas precisam efetuar ajustes no seu corpo em resposta a uma ampla faixa de alterações no ambiente externo. Essa capacidade é traduzida principalmente por alterações apresentadas nos padrões ou nos movimentos de crescimento. Os movimentos de crescimento são classificados em duas categorias básicas: os movimentos orientados (tropismos) e os movimentos não orientados (nastismos).

### **Tropismos:**

Os movimentos de crescimento classificados como *tropismos* correspondem àqueles em que a *resposta* das plantas (ou do órgão) ocorre *em direção à fonte do estímulo ou na direção contrária a este*, ou seja, envolvem *respostas orientadas*. Quando a *resposta ocorre em direção à fonte de estímulo* ela é denominada *positiva*. Quando ela corre na *direção oposta ao estímulo* ela é *negativa*. Os mecanismos de desenvolvimento dos tropismos são praticamente os mesmos em diferentes situações. Normalmente eles estão associados a um desbalanço na distribuição ou no acúmulo de auxinas entre um lado e o outro da planta, fazendo com que o lado em que ela apresente concentração insuficiente ou excessiva cresça mais lentamente do que o outro, apresentando, como consequência, uma resposta direcionada (orientada) de crescimento. Os tropismos podem se manifestar de várias formas e em respostas a diferentes estímulos.

### **Fototropismo:**

No *fototropismo* o *crescimento* da planta ou do órgão ocorre *em direção à fonte de radiação luminosa ou na direção oposta a esta*. Portanto, o fototropismo pode ser positivo ou negativo. O fototropismo é uma resposta fotomorfogênica particularmente marcante em plântulas cultivadas no escuro. A iluminação

unilateral é comumente utilizada em estudos experimentais, mas o fototropismo também pode ser observado quando uma plântula é exposta a duas fontes de radiação com intensidades diferentes, o que simula condições mais prováveis observadas em ambientes naturais.

Os primeiros estudos envolvendo o fototropismo foram realizados por Darwin. Os resultados desses estudos culminaram com a descoberta das auxinas. Darwin utilizou como material vegetal coleótilos (órgãos protetores das folhas jovens) de plantas de alpiste. Quando os coleótilos eram iluminados unilateralmente eles apresentavam curvatura em direção à fonte de luz. O ápice, região de maior produção de auxinas, é a principal área de sensibilidade dos coleótilos, uma vez que quando o mesmo é coberto com um capuz opaco (papel alumínio) ou cortado a curvatura não acontece. Porém, a região de curvatura localiza-se abaixo do ápice, na *zona de crescimento*, o que permitiu concluir que a resposta era devida à ação de alguma substância difusível. A importância do ápice na percepção da radiação, a necessidade do transporte lateral e da difusão de alguma substância para a ocorrência da curvatura foi evidenciada em diferentes experimentos e por diferentes pesquisadores. Coube à Frits W. Went (1926) comprovar que substâncias difusíveis podiam ser coletadas em blocos de gelatina a partir dos ápices de plantas de aveia (*Avena sativa*). Quando esses blocos eram assentados lateralmente (deslocados) em coleótilos de aveia decapitados e mantidos no escuro, a curvatura era observada, sendo o ângulo da curvatura diretamente proporcional à concentração da substância translocada. Anos mais tarde, a identidade química da substância difundida para a gelatina foi identificada, sendo correspondente ao *ácido indol-3-acético* (AIA).

É o fluxo de auxinas através da zona de crescimento (no lado não iluminado) o responsável pelo maior alongamento das células (teoria do crescimento ácido) e não a sua foto-destruição, como inicialmente se especulou. Nas raízes, o processo é o inverso, pois a concentração de auxina é mais alta do que a concentração considerada *ótima*. Assim, o lado iluminado passa a ter menos auxina, libertando-se do efeito inibidor imposto pela sua elevada concentração e, desse modo, as suas células crescem mais do que as do lado oposto, resultando numa curvatura na direção oposta à fonte de luz.

Coleótilos estiolados, em função de sua rápida e intensa resposta fototrópica têm sido utilizados em modelos clássicos de estudos relacionados ao fototropismo. *Espectros de ação* para a *resposta fototrópica*, utilizando coleótilos de aveia e de alfafa, evidenciaram que a *radiação azul é a mais efetiva* na indução



da curvatura. O espectro mostra um pico em aproximadamente 370 nm e um padrão de “três dedos” na região entre 400 a 500 nm. As primeiras hipóteses sobre os fotorreceptores de luz azul centraram-se nos carotenóides e nas flavinas. Estudos envolvendo inibidores da síntese desses pigmentos bem como a utilização de plantas mutantes possibilitaram a elucidação parcial dos componentes envolvidos na percepção do estímulo. Plantas mutantes apresentando níveis reduzidos de carotenóides, mas com a síntese normal de flavinas apresentam resposta fototrópica, embora esta seja um pouco menos intensa do que em planta normais. Todavia, plantas de milho tratadas com KI ou com azida sódica, substâncias inibidoras da biossíntese de flavinas, mas que não apresentam efeitos sobre a biossíntese dos carotenóides, não apresentam resposta fototrópica. Em função disso, foi levantada a hipótese de que as *flavinas* (riboflavina) corresponderiam ao  *Cromóforo fotorreceptor responsável pelo início da cascata de eventos que culmina com a curvatura fototrópica*. Os *carotenóides*, por sua vez, poderiam participar como *moduladores ou fotoprotetores das flavinas contra o excesso de radiação*.

Alguns estudos envolvendo plantas mutantes de *Arabidopsis* deficientes na resposta fototrópica dependente de luz azul, forneceram informações valiosas sobre os eventos que precedem à curvatura. Um desses mutantes, o *nph1* (*nonphototropic hypocotyl*) foi recentemente redenominado como *phot1*. A proteína codificada pelo gene *phot1* recebeu a denominação de *fototropina*. As *fototropinas* são *proteínas quinases autofosforilantes*, com atividades de fosforilação *estimuladas pela luz azul*. O espectro de ação da ativação por luz da atividade de quinase na fototropina coincide com o espectro de ação para o fototropismo, incluindo os múltiplos picos na região do azul. Diversos estudos mostraram que outras proteínas com similaridade de sequência com o N terminal da fototropina ligam-se a co-fatores de flavina, o que reforça a possibilidade da participação dessa molécula na porção cromofórica da fototropina. Atualmente, duas fototropinas são conhecidas (*phot1* e *phot2*). Elas são responsáveis pela curvatura fototrópica em hipocótilos de *Arabidopsis* e em coleótilos de aveia (*Avena sativa*) sob condições de baixa e de alta fluência.

A *phot1* exibe um gradiente de fosforilação durante a exposição unilateral a uma baixa fluência de luz azul. De acordo com a hipótese atual, o **gradiente na fosforilação da fototropina induz o movimento da auxina (AIA) para o lado sombreado do coleóptilo**. Uma vez alcançando o lado sombreado, o AIA é transportado na direção basípeta para a zona de alongamento, onde estimula a

*expansão celular*. A aceleração do crescimento no lado sombreado e a diminuição do crescimento no lado iluminado resultam num crescimento diferencial que culmina com a curvatura em direção à luz.

#### **Heliotropismo:**

O *heliotropismo* ou rastreamento solar corresponde à *movimentação de folhas e flores durante o dia, orientando-se perpendicular ou paralelamente aos raios solares*. Ao contrário do fototropismo, o *heliotropismo não resulta do crescimento assimétrico*. Na maioria dos casos, estes movimentos envolvem os *púlvinos* nas bases das folhas e/ou folíolos. Em algumas espécies os pecíolos também parecem possuir características pulvinares na maior parte ou ao longo de todo o seu comprimento. Exemplos de plantas que apresentam movimentos heliotrópicos são o algodão, a soja, o lupininho e, o mais conhecido, o girassol.

Existem dois tipos de heliotropismo. No *dia-heliotropismo*, as *folhas permanecem perpendiculares aos raios do sol durante todo o dia, aumentando suas taxas fotossintéticas*. Já no *para-heliotropismo*, as plantas *evitam a luz solar direta durante os períodos de seca, orientando suas lâminas foliares paralelamente aos raios de sol, reduzindo a temperatura das folhas e a perda de água por transpiração*.

#### **Gravitropismo:**

O *gravitropismo* também é denominado geotropismo. O *gravitropismo* consiste no *crescimento direcionado em resposta à força da gravidade*. Tipicamente, as raízes são atraídas pela força da gravidade, crescendo em direção ao centro da terra (geotropismo positivo), ao passo que os caules, geralmente, crescem na direção oposta (geotropismo negativo). Todavia, existem relatos interessantes de órgãos de plantas que apresentam resposta gravitrópica alternadas dependente do estágio de desenvolvimento. Em lírio-martagon (*Lilium martagon*) e em *Cymbalaria muralis*, as flores jovens mostram curvatura gravitrópica positiva, ao passo que o fruto se desenvolve apresentando curvatura gravitrópica negativa. O significado ecológico dessa mudança pode estar associado à proteção das peças florais durante o estágio de floração. Por outro lado, durante a frutificação o recebimento de radiação solar pode contribuir para o desenvolvimento dos frutos.

O gravitropismo também envolve a redistribuição lateral de auxina (AIA). Quando plântulas de aveia crescidas no escuro são orientadas horizontalmente, os coleótilos curvam-se em direção oposta à força da gravidade. Essas evidências indicam que os ápices também podem perceber a gravidade e promover a redistribuição das auxinas. De acordo com o modelo de Cholodny-Went, a auxina,

em um coleóptilo horizontal é transportada lateralmente para a metade inferior, levando esta a crescer mais rápido que a metade superior. O inverso acontece nas raízes, onde, as auxinas inibem muito o crescimento. As raízes, quando colocadas horizontalmente, sofrem redução no excesso de hormônio que atrasava o crescimento no lado superior, aumentando ainda mais a sua concentração na parte de baixo. Desta forma, na raiz é o lado de cima que cresce mais depressa, fazendo com que a planta se incline em direção à terra.

Ao contrário da luz unilateral, a gravidade não forma gradientes entre as porções inferiores e superiores dos órgãos. Uma maneira singular pela qual a gravidade pode ser percebida envolve o movimento de corpos em queda ou em sedimentação. Os candidatos mais óbvios nos ápices radiculares são os *amiloplastos* (grandes e densos) presentes em muitas células. Esses amiloplastos especializados apresentam alta densidade em relação ao citoplasma, de modo que eles sedimentam rapidamente na superfície inferior da célula. Os amiloplastos que funcionam como sensores de gravidade são denominados *estatólitos* e as células especializadas na percepção do estímulo gravitacional nas quais eles ocorrem são denominadas *estatócitos*. Os *estatólitos* funcionam, portanto, como *sensores da gravidade nas raízes e nas partes aéreas*. Ainda não está claro se os estatócitos conseguem detectar o movimento descendente dos estatólitos, à medida que eles passam pelo *citoesqueleto*, ou se o estímulo é percebido apenas quando o estatólito atinge a superfície inferior da célula.

Na resposta gravitrópica em *raízes primárias* a principal região de percepção do estímulo está localizada na *coifa*. A sua remoção em raízes anula a resposta gravitrópica, mas não o crescimento. Nas *partes aéreas e em coleóptilos*, a gravidade é percebida *na bainha de amido* (bainha amilífera), uma camada de células que circunda os tecidos vasculares. A bainha de amido é similar à endoderme da raiz. Todavia, ao contrário da endoderme, que apresenta Estrias de Caspary, a bainha de amido apresenta amiloplastos. Mutantes de *Arabidopsis* sem amiloplastos na bainha de amido apresentam a parte aérea agravitrópica, mas raízes com crescimento gravitrópico normal.

Os rizóides de *Chara foetida*, uma alga verde e sésbil que apresenta aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de largura e vários centímetros de comprimento são bastante sensíveis à resposta gravitrópica. Em decorrência disso, eles têm sido utilizados em estudos visando à compreensão dos processos relacionados ao geotropismo. A curvatura apresentada pela porção superior dos rizóides é muito rápida. A detecção do estímulo gravitacional também envolve a região apical. A

resposta gravitrópica nessa alga está associada à habilidade dos rizóides em crescer e à presença de corpos refrativos na região apical. Esses corpos, aproximadamente 30 a 60 por ápice, são grandes e densos, sendo compostos por cristais de  $\text{BaSO}_4$ , com cerca de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Os corpos refrativos se sedimentam muito rapidamente sob a ação da gravidade, correspondendo aos estatólitos dessa alga. Filamentos de actina estão envolvidos na reorganização dos estatólitos de *Chara* após centrifugação. Os rizóides crescem de modo similar a outros órgãos pela incorporação de materiais provenientes do complexo de Golgi nas paredes das células do ápice (na superfície superior), o que resulta na curvatura geotrópica.

Em plantas, ainda é pouco compreendido como os estatócitos percebem precisamente a precipitação dos estatólitos. De acordo com uma hipótese, o contato ou a pressão resultante da sedimentação dos amiloplastos sobre o retículo endoplasmático (na metade inferior da célula) é que desencadeia a resposta. Recentemente, um novo modelo foi proposto, sendo denominado “*modelo da tensogridade*”. Esse modelo se refere à *integridade estrutural criada pela tensão interativa entre dois componentes estruturais*. Pela hipótese, os *componentes estruturais* seriam compostos pela *rede de microfilamentos de actina, que forma parte do citoesqueleto das células centrais da columela na coifa*. Supõe-se que a rede de actina esteja ancorada a receptores da membrana plasmática, ativados pela tensão. Tais receptores são tipicamente canais iônicos sensíveis a estímulos mecânicos. A presença de canais de cálcio ativados pela tensão já foi demonstrada em plantas. De acordo com o modelo, a sedimentação dos estatólitos no citossol, rompe localmente a rede de actina, mudando a distribuição da tensão transmitida aos canais de cálcio na membrana plasmática, alterando, assim, a sua atividade e, por consequência, a concentração citossólica do  $\text{Ca}^{2+}$ .

Vários experimentos têm sugerido que o complexo  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina é necessário para o gravitropismo em milho. Esses experimentos envolvem a utilização do EGTA, um composto que pode quelatar (formar um complexo) o  $\text{Ca}^{2+}$ , inibindo assim, a sua absorção pelas células. O EGTA inibe tanto o gravitropismo da raiz quanto a distribuição assimétrica da auxina em resposta à gravidade. O posicionamento de um bloco de ágar contendo cálcio lateralmente em uma raiz de milho orientada verticalmente induz o crescimento da raiz em direção ao lado em que se encontra o bloco de ágar. Todavia, não foram detectadas, até então, mudanças na distribuição do cálcio intracelular nas células da columela em resposta ao estímulo gravitacional. Evidências recentes sugerem que variações no pH intracelular são as primeiras alterações detectáveis nas células da columela em



resposta à gravidade. Com apenas dois minutos de estímulo gravitacional, o pH das células da columela da coifa aumenta de 7,2 para 7,6 e o pH do apoplasto reduz de 5,5 para 4,5. Tais alterações precederam qualquer curvatura detectável em até 10 minutos. A alcalinização do citossol e a acidificação do apoplasto sugerem que a ativação da H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática é um dos eventos iniciais que desencadeiam a percepção da gravidade ou a transdução do sinal gravitacional.

Uma vez que a coifa encontra-se a certa distância da zona de alongamento (região responsável pela curvatura geotrópica), aparentemente algum mensageiro químico está envolvido na comunicação entre a coifa e essa região de alongamento. Experimentos de microcirurgia, nos quais metade da coifa é removida, demonstraram que ela produz um inibidor de crescimento na raiz. Essa descoberta sugere que a coifa fornece um inibidor para a metade da raiz durante a curvatura gravitropica. Embora encontrado em concentrações mais baixas que na parte aérea, o AIA é o principal candidato a inibidor do alongamento das raízes. Mutantes *agr1*, deficientes em um transportador de efluxo de auxina relacionados às proteínas PIN, são agravitropicos, o que reforça essa possibilidade. A proteína AGR1 (PIN) está localizada na extremidade basal (distal) das células corticais próximas ao ápice em raízes de *Arabidopsis*. As proteínas AUX1, localizadas assimetricamente nas células de parênquima do protofloema, direcionam o transporte acrópeto (base → ápice) de auxinas a partir do floema em direção a um grupo de células na columela da coifa. A auxina é, então, transportada de forma basípeta (ápice → base) para a zona de alongamento, o que é facilitado pelas proteínas PIN (AGR1). A auxina transportada de forma basípeta acumula-se na zona de alongamento e não ultrapassa essa região. Flavonóides capazes de inibir o efluxo de auxinas são sintetizados nessa região da raiz e provavelmente promovem a retenção das auxinas por estas células. De acordo com o modelo, o transporte basípeta de auxinas em raízes posicionadas verticalmente é igual dos dois lados. No entanto, quando a raiz é colocada horizontalmente, a coifa redireciona a maior parte da auxina para a metade inferior, inibindo assim, o crescimento desse lado. Recentemente, foi elucidado o mecanismo de redistribuição lateral da auxina na coifa. As proteínas PIN são ciclicamente incorporadas e removidas da membrana plasmática e dos compartimentos secretores intracelulares. Essa dinâmica permite que as proteínas PIN sejam direcionadas para partes específicas da célula em resposta a um estímulo direcional. Em raízes orientadas verticalmente, PIN3 é distribuída de maneira uniforme em torno das células da columela. Porém, quando a raiz é posicionada horizontalmente, a proteína PIN3 é lateralmente transferida

para a metade inferior das células da columela da raiz. Como resultado a auxina é transportada de modo polar para a metade inferior da coifa, resultando no seu acúmulo, o que inibe o seu crescimento e leva à curvatura geotrópica.

#### **Tigmotropismo:**

O *tigmotropismo*, ou *crescimento em resposta ao toque*, corresponde à *tendência que as plantas trepadeiras (volúveis) e as gavinhas têm de, quando em contato com algum suporte, crescerem em sua direção e ao seu redor*. Esse movimento também pode ocorrer em raízes de algumas plantas, como em hera (*Hedera helix*), espécie que cresce apoiada em muros, devido à fixação de suas raízes. Outras plantas, através de suas gavinhas, tendem a se enrolar ao redor de suportes, como acontece com plantas de uva e o maracujá, por exemplo. As auxinas também parecem estar envolvidas nessa resposta. Segundo uma hipótese, o transporte transversal de auxinas possibilita um maior crescimento da face oposta à região de contato com o suporte.

A *circumnutação* (nutação) é outro conceito utilizado para explicar o que alguns autores também denominam como *tigmotropismo*. A classificação desse tipo de mecanismo quanto a uma resposta nástica ou trópica é uma controvérsia. Alguns autores também utilizam o termo nutação para explicar o tipo de movimento realizado por cipós, que crescem enrolando-se para um lado, em torno de seu próprio eixo, ao redor de um suporte. O lado externo cresce mais que o interno fazendo com que o cipó cresça para o lado direito (dextrorso) ou para o esquerdo (sinistrorso). Esses movimentos são autônomos, uma vez que o estímulo não provem do exterior, mas sim, do interior de órgãos ou organismos. O movimento é produzido por ondas de crescimento ao redor do órgão.

Outro tipo de movimento classificado como circumnutação é a movimentação que os ápices de plântulas de algumas espécies apresentam durante o seu desenvolvimento. Esses ápices podem traçar uma elipse mais ou menos regular durante o crescimento dos ramos (ápices), completando um giro inteiro após um determinado intervalo de tempo. Em girassol, esse giro é consideravelmente rápido, ocorrendo em menos de 2 horas.

#### **Hidrotropismo:**

O *hidrotropismo* consiste no *crescimento orientado em direção às regiões do solo com maior umidade*. O hidrotropismo explica o maior crescimento das raízes em resposta ao gradiente de umidade do solo, ou seja, elas crescem em direção às regiões de maior potencial hídrico. Apesar do difícil estudo, pois as raízes respondem mais à gravidade do que ao gradiente de umidade, pesquisas têm

demonstrado que as células sensíveis ao gradiente de umidade e que induzem o hidrotropismo positivo, se localizam na coifa, estando o cálcio envolvido nessa resposta.

#### **Quimiotropismo:**

O *quimiotropismo* é o *crescimento orientado* em resposta a determinados *agentes químicos*. O quimiotropismo é observado, por exemplo, durante a formação do tubo polínico, o que ocorre em resposta a estímulos químicos provenientes do ovário da flor. Outro tipo de quimiotropismo é observado em resposta à aplicação de adubos. Quando o solo é adubado apenas de um dos lados, verifica-se maior crescimento das raízes em direção ao lado onde foi colocado o fertilizante, mostrando que as raízes crescem na direção da maior concentração dos elementos essenciais (sais minerais).

#### **Nastismos:**

Os *nastismos* são *movimentos das plantas desencadeados por estímulos ambientais, embora não orientados por eles*. Alguns movimentos násticos ocorrem em resposta a variações no *crescimento*, enquanto outros envolvem variações na *turgescência*. As principais respostas násticas por variação no crescimento são a *epinastia* (maior crescimento lado superior) e a *hiponastia* (maior crescimento do lado inferior). O principal *agente causador* de epinastia/hiponastia é o *etileno*, sendo esta uma resposta típica da ação desse fitormônio, que atua sobre a orientação dos microtúbulos.

As principais respostas násticas, por variação na turgescência, são o nictinastismo e o sismonastismo:

#### **Nictinastismo:**

O *nictinastismo* é um movimento de *fechamento de folhas/folíolos ou dos ramos* e que apresenta *ritmo circadiano regulado pela luz*. As folhas ou ramos se movimentam para cima e para baixo em resposta aos ritmos diários de luz e de escuro. Esses *movimentos* nictinásticos são decorrentes de *mudanças no grau de hidratação* (tamanho) de células parenquimáticas, localizadas nos *púlvinos*, regiões espessadas observadas nas bases dos pecíolos/peciólos das folhas/folíolos. O movimento dos púlvinos está associado a mudanças no turgor decorrentes do fluxo de íons ( $K^+$  e  $Cl^-$ ) para dentro ou para fora dos vacúolos de célula específicas dos púlvinos (células motoras), de modo semelhante ao funcionamento dos estômatos. Essas alterações encontram-se sob o controle do relógio biológico e do fitocromo,

uma vez que o ritmo persiste por algum tempo mesmo quando as plantas são colocadas continuamente no escuro.

A luz afeta diretamente esse movimento. A luz azul estimula os folíolos fechados a se abrirem e a luz vermelha, seguida por escuro, provoca o fechamento dos folíolos abertos. Os folíolos começam a fechar cinco minutos após serem transferidos para o escuro, sendo o fechamento completado em 30 minutos. O movimento nictinástico de fechamento dos folíolos encontra-se sob controle do fitocromo, uma vez que os efeitos da luz vermelha podem ser cancelados pela aplicação de radiação vermelho-distante.

#### **Sismonastismo:**

O *sismonastismo* é caracterizado por *movimentos násticos resultantes de estimulação mecânica*. Esses movimentos são exemplificados principalmente pelo comportamento da planta conhecida como “dormideira” ou “sensitiva” (*Mimosa pudica*), cujos folíolos ou, às vezes, as folhas inteiras se fecham muito rapidamente (0,1 s) em resposta ao toque, vibração, estímulo térmico ou elétrico. Existem evidências de que dois mecanismos distintos estão envolvidos no controle desse processo: um elétrico e o outro químico. Essa resposta é resultado de uma rápida mudança na pressão de turgor de determinadas células do púlvino localizadas na base de cada folíolo ou folha. Em algumas situações, apenas um folíolo precisa ser estimulado para que a folha e/ou toda a planta se fechem. Essa resposta é decorrente da abertura de canais de  $K^+$  e de  $Cl^-$  nas membranas das células dos púlvinos, causando a sua despolarização (componente elétrico), o que resulta na perda de água e no murchamento dessas células. A reabertura dos folíolos, todavia, leva de 10-20 min para se processar, uma vez que o mecanismo inverso, de repolarização da membrana, envolve o transporte ativo de íons, que é mais lento do que a despolarização (perda de íons através da abertura de canais em mecanismo passivo).

A despolarização das membranas é um processo muito rápido, o que gera uma alteração na voltagem. Em um gráfico, essa alteração na voltagem resulta em um pico elétrico quando a despolarização é plotada em função do tempo, num fenômeno denominado *potencial de ação*. O potencial de ação pode se propagar nos tecidos a uma velocidade de aproximadamente  $2-10 \text{ cm s}^{-1}$  (dependendo da temperatura), de modo similar à propagação de estímulos nervosos. Todavia, o potencial de ação não se propaga através dos púlvinos a menos que um mediador químico seja elicitado. Essa resposta química é causada por uma substância que se move através do xilema. O cientista Italiano Ubaldo Ricca foi o primeiro a estudar



esse mediador. Ele cortou um ramo de *Mimosa* e reconectou este segmento ao ramo cortado com um pequeno tubo cheio de água. Quando as folhas de um dos lados foram tocadas, ocorreu o fechamento do folíolo em outras porções, evidenciando a propagação de alguma substância. Essa “substância” foi denominada “Fator Ricca”, embora ela não tenha sido identificada de imediato. Todavia, em 1983 a natureza química do “Fator Ricca” foi elucidada em experimentos realizados por H. Schildknecht e colaboradores, sendo atualmente denominadas *turgorinas*, devido ao seu papel no controle do turgor das células dos púlvinos. Eles aplicaram algumas substâncias com provável participação na resposta sisonástica a ramos de *Mimosa* mantidos em solução. Estas substâncias foram transportadas pela corrente transpiratória até os púlvinos, onde as suas membranas responderam a algumas delas, provocando o seu fechamento. Com respeito à função das turgorinas, elas têm sido associadas, por analogia, ao neurotransmissor acetilcolina, uma vez que as turgorinas também possuem dois centros que podem ser hidrolisados, sendo os produtos dessa hidrólise inativos em testes biológicos.

Os movimentos nictinásticos são exibidos por muitas leguminosas, como por exemplo, *Mimosa*, *Albizia* e *Samanea*, assim como por membros da família Oxalidaceae. O movimento sisonástico, entretanto, é restrito a poucas espécies (*Mimosa pudica*, *Oxalis stricta*). Os fatores relacionados a esses movimentos (turgorinas) também são denominados “fatores de movimentos periódicos em folhas” (BLMF’s, em inglês). Alguns deles foram isolados em *Mimosa* (BLMF1 e BLMF7) e em *Oxalis* (BLMF1 e BLMF3). Posteriormente, tal como em *Acacia*, foi observado que esses BLMF’s são  $\beta$ -glicosídeos do ácido gálico (ácido gálico-4-O-( $\beta$ -D-glicopiranosil-6’-sulfate)).

Alguns tipos de movimentos não são totalmente compreendidos, havendo, em certos casos, mais de uma explicação para o seu funcionamento. A planta carnívora *Dionaea muscipula* fecha suas folhas rapidamente (0,5 segundos) quando uma presa toca simultaneamente seus pêlos tectores, localizados nas folhas. Ainda não se sabe exatamente quais são os processos bioquímicos associados ao fechamento da armadilha. No entanto, sabe-se que eles são acompanhados por uma acentuada queda nos níveis de ATP. A resposta ao toque apresentada pelas folhas de *Dionaea muscipula* é altamente especializada, sendo capaz de distinguir presas vivas de objetos inanimados como grãos de areia e pequenos galhos que caem eventualmente nas folhas. O fechamento não ocorre a menos que dois de seus pêlos sejam tocados de forma sucessiva ou que um pêlo seja tocado pelo

menos duas vezes. O movimento das folhas da *Dionaea* também tem sido explicado como consequência de uma rápida perda de pressão de turgor na epiderme superior das folhas, tornado as mesmas flexíveis, fazendo com que as duas metades da armadilha se curvem para dentro. Outra explicação alternativa envolve o afrouxamento súbito das paredes das células motoras induzidas por acidificação, num efeito similar à ação das auxinas sobre a  $H^+$ -ATPase, o que causa uma expansão subsequente. Embora pelo menos quatro testes realizados para confirmar a teoria da acidificação tenham dado resultados positivos, estudos recentes levantam dúvidas sobre essa explicação e sugerem que o movimento dessas folhas (armadilha) pode ser dirigido pela pressão de turgor das células do mesófilo subjacentes à epiderme superior. Quando a armadilha está aberta, as células do mesófilo estão comprimidas e o tecido encontra-se sob tensão. A expansão das células do mesófilo dirigida pelo turgor, que resulta no fechamento da armadilha, não requer um mecanismo de afrouxamento da parede. Outros estudos indicam que variações no potencial de ação (pico elétrico), decorrentes principalmente do influxo de  $Ca^{2+}$  de compartimentos internos e externos, apresentam ação direta sobre esse potencial. Os efeitos do  $Ca^{2+}$  seriam similares à sua ação no fechamento estomático em resposta ao ABA, onde o aumento da sua concentração citossólica causa abertura de canais de  $Cl^-$  (e a sua perda), o que, por sua vez, resulta na abertura de canais de  $K^+$ , que também são perdidos para o meio externo, fazendo com que a célula perca água e se desidrate, resultando no seu fechamento.

#### **Fotonastismo:**

No fotonastismo, a luz é o agente estimulador do movimento. A abertura de flores em vitória-régia segue esse mecanismo. As flores se abrem à noite e se fecham ao amanhecer, permanecendo assim durante o dia. Tal fato tem ligação com seu agente polinizador (coleóptero).

#### **Termonastismo:**

A temperatura é o agente estimulador do movimento. É, por exemplo, o que ocorre com as flores da tulipa, que se fecham quando a temperatura cai e se abrem em resposta ao aumento da temperatura. Esse comportamento aumenta a durabilidade da flor, atrasando a sua senescência.

#### **Hidronastia:**

A hidronastia envolve o enrolamento de folhas visando reduzir a exposição da superfície foliar ao ar seco. É característico de algumas espécies de gramíneas. O enrolamento é decorrente da perda de turgor de células específicas denominadas células buliformes.

Alguns tipos de comportamento das plantas não são classificados como respostas násticas ou tropicas. As plantas também respondem a estímulos mecânicos ao alterarem seus padrões de crescimento, fenômeno conhecido como **tigmomorfogênese**. Estudos revelaram que a fricção regular ou o arqueamento dos caules inibe seu alongamento e estimula sua expansão radial, resultando em plantas mais baixas e encorpadas. No ambiente natural esses estímulos são o vento, as gotas de chuvas e a fricção pela passagem de animais e máquinas.



# FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA





## 9. BIOCICLO VEGETAL:

O *biociclo vegetal* representa as diferentes etapas (ou fases) do ciclo de vida das plantas relacionadas ao crescimento e desenvolvimento (C&D), compreendendo desde a germinação das sementes até a senescência e morte do indivíduo. As principais fases desse processo são a *germinação, a juvenilidade, a maturidade reprodutiva, a senescência (com ou sem abscisão) e a morte*. Os processos de senescência, de abscisão e de morte podem ser parciais (senescência policárpica) ou totais (senescência monocárpica). A germinação, primeira fase do biociclo vegetal, foi estudada no primeiro tópico do curso. Por isso, começaremos o capítulo estudando a juvenilidade.

### Juvenilidade:

A *juvenilidade* representa na fase do C&D compreendida desde a *germinação das sementes até o momento em que a planta torna-se pronta para a reprodução*, ou seja, quando ela se torna fisiologicamente “adulta”. Durante a juvenilidade, a planta não se encontra pronta ou apta para a reprodução (florescimento). A *principal característica* dessa fase é, seguramente, a *incapacidade de resposta dos meristemas vegetativos aos estímulos internos e/ou externos para a indução do desenvolvimento das flores, mesmo que as condições propícias e necessárias para o processo estejam disponíveis*. Nas plantas originadas a partir de sementes, um forte gradiente de juvenilidade se estabelece ao longo do corpo da planta. Principalmente nas espécies arbóreas, os tecidos próximos à base mantêm características juvenis que vão atenuando à medida que se distancia dessa região (*cone ou gradiente de juvenilidade*). É por esse motivo que quando uma espécie arbórea sofre uma poda drástica da parte aérea (até próximo à sua base), os ramos que rebrotam são todos *juvenis*, mesmo que a árvore em questão já tenha florescido. Em plantas enxertadas, é comum observar a ocorrência de brotações juvenis, oriundas das bases dos porta-enxertos, contrastando com as copas (enxerto), que já são adultas.

A juvenilidade está diretamente relacionada ao vigor da planta. É nessa fase do desenvolvimento que a planta se estabelece e, por isso, algumas características observadas nas plantas juvenis são perdidas quando ela se torna adulta. Nessa fase, o crescimento vegetativo é exponencial, em decorrência dos meristemas radiculares e da parte aérea apresentarem intensa atividade (geotropismo e fototropismo intenso). As plantas juvenis apresentam maior

facilidade no sucesso de enxertias e na formação de raízes adventícias. O fenômeno da heterofilia (polimorfismo foliar), ou seja, presença de folhas com diferentes formatos em um mesmo indivíduo, ou, então, formas diferentes das folhas nas fases juvenil e adulta, também pode ser observado. A presença de espinhos, de caules rasteiros e esverdeados, de ramificação e enfolhamento vigorosos, de ramos com entrenós longos e maior resistência às doenças, dentre outros, também são características típicas da fase de juvenilidade.

A duração da juvenilidade varia de espécie para espécie. Algumas espécies são extremamente precoces, enquanto outras são muito tardias. Plantas de feijão, por exemplo, encontram-se aptas para receber estímulos para o florescimento com 6 a 8 dias após a germinação, embora elas não floresçam por problemas morfológicos. Plantas de amendoim são ainda mais precoces, pois o eixo embrionário já é capacitado para receber estímulos para florescimento, possibilitando a formação de estruturas florais com 2 a 3 dias após a germinação. Por outro lado, plantas de bambu apresentam um período de juvenilidade bastante longo, com duração de 25 a 30 anos. Além disso, após florescem uma única vez elas morrem (planta monocárpica). Plantas de carvalho também apresentam juvenilidade longa, levando de 30 a 40 anos para florescer. Todavia, após a primeira floração, as plantas dessa espécie passam a florescer periodicamente (planta policárpica). Ainda mais tardias são as plantas de sequóia (*Sequoia sempervirens*), que demoram aproximadamente 70 anos para o primeiro florescimento. Entretanto, quando plantas dessa espécie são borrifadas com solução de GA<sub>3</sub> a 1500 ppm elas florescem após cerca de 1 ano e meio.

Durante a passagem do estágio juvenil para o adulto, as plantas sofrem inúmeras modificações, que podem resultar em mudanças no seu comportamento, no hábito e no vigor de crescimento. De uma forma geral, os requerimentos essenciais para a *transição da fase juvenil para a fase adulta* podem ser *endógenos*, como o grau de desenvolvimento e a idade fisiológica da planta; o índice de área foliar (capacidade fotossintética); a relação carbono/nitrogênio; as concentrações favoráveis dos reguladores de crescimento; o número de ciclos mitóticos; a distância mínima entre os meristemas e as raízes; bem como *exógenos*, como a temperatura, o fotoperíodo e o balanço hídrico, principalmente.

Pesquisas sobre a juvenilidade das plantas podem ser de muita utilidade para os melhoristas e fisiologistas de plantas. Técnicas para manter ou para reduzir a juvenilidade são as chaves do sucesso em programas de propagação vegetativa

e/ou sexuada. A reversão da fase adulta à fase juvenil é denominada *rejuvenescimento*. O rejuvenescimento de plantas tem recebido atenção especial nas últimas décadas, principalmente pelas inúmeras aplicações dessa técnica no melhoramento dos processos de produção florestal, desde a fase de produção das mudas até a condução de povoamentos mais produtivos, mais uniformes e com melhores características dos produtos finais. Entre os *principais métodos de rejuvenescimento* e/ou de manutenção da juvenilidade de plantas adotados, podem ser citadas a *propagação vegetativa seriada* e as *podas sucessivas*. Entretanto, o rejuvenescimento também pode ocorrer por aplicações de citocininas e giberelinas, pela propagação seriada via enxertia, pela propagação seriada via estaquia e pela micropropagação. A propagação vegetativa de árvores adultas requer material fisiologicamente juvenil (*gemas epicórmicas basais*) ou com rejuvenescimento capaz de formar raízes em material adulto. As árvores adultas necessitam de técnicas especiais para reverter à juvenilidade e apresentar condições favoráveis para o enraizamento e crescimento. Estudos indicam que as características relacionadas à maturação podem ser modificadas eficientemente por meio da cultura *in vitro* (micropropagação) seriada. Em algumas espécies de plantas, os estudos mostram que o potencial de enraizamento e o vigor dos propágulos de plantas maduras aumentam com os sucessivos subcultivos *in vitro*. Para o rejuvenescimento de espécies florestais, a micropropagação tem sido a técnica mais eficiente.

O rejuvenescimento por intermédio de podas drásticas pode ocorrer através da realização de cortes rasos em árvores adultas, visando o crescimento de brotações juvenis e a manutenção da juvenilidade por podas sucessivas, que possibilitam o aumento na produção de propágulos e a manutenção da juvenilidade dos mesmos. Esse sistema tem sido usado com sucesso no Brasil na área florestal para a produção de estacas de *Eucalyptus* e *Pinus* com maior potencial de enraizamento, sendo a base para a propagação clonal e comercial desses gêneros. Pelo método de rejuvenescimento por enxertia seriada, os propágulos “maduros” são enxertados em um porta-enxerto juvenil, o que facilita e acelera o rejuvenescimento desses materiais. O grau de rejuvenescimento obtido depende do número de re-enxertias do enxerto no porta-enxerto juvenil e do gênero envolvido. Pesquisas têm apontado de duas a seis re-enxertias como um número suficiente para rejuvenescer os materiais, existindo variações de ordem específica.

Em alguns casos, aplicações de giberelinas e de citocininas podem causar estímulo no crescimento e reversão às características juvenis em muitas espécies,

incluindo algumas arbóreas. Além dos métodos citados anteriormente, existem várias outras práticas ou métodos para reverter ou manter a juvenilidade das plantas, como por exemplo, o tratamento térmico (frio ou calor), tratamento com raios X, neodiferenciação de gemas, apomixia e meiose, indução de ramos adventícios em porções de raízes e déficit lumínico (sombreamento), dentre outros. No entanto, estes métodos têm sido menos estudados e consagrados, o que resulta em menor aplicação e poucas informações relacionadas os seus efeitos sobre o rejuvenescimento e/ou manutenção da juvenilidade. O conhecimento e o domínio dos aspectos referentes à juvenilidade e à maturidade das plantas podem contribuir diretamente para o sucesso nos projetos de propagação clonal, além de aumentar a eficiência e a velocidade dos programas de melhoramento genético que buscam, por exemplo, a precocidade da floração e/ou qualquer outro caráter da maturidade.

#### **Reprodução:**

A reprodução vegetal pode se processar através de mecanismos vegetativos (assexuados) e sexuados (fusão de gametas). A propagação sexuada somente é possível após a superação da juvenilidade e a consequente entrada na fase de maturidade fisiológica. Todavia, a propagação vegetativa pode ser realizada a partir de materiais provenientes de plantas juvenis e/ou adultas, sendo os materiais provenientes das plantas juvenis mais adequados e responsivos aos métodos de propagação vegetativa.

Na propagação vegetativa (assexuada), partes somáticas são empregadas na formação de novos indivíduos que são geneticamente idênticos ao indivíduo parental (clones), sem que seja aumentada a variabilidade genética. *Os clones correspondem a todos os descendentes desenvolvidos a partir de um único indivíduo por propagação assexuada (vegetativa)*. A base celular da clonagem é a *totipotência*, conceito que considera *toda célula viva e nucleada (não necessariamente meristemática) potencialmente capaz (apresenta toda a informação genética necessária) para regenerar um indivíduo inteiro e geneticamente idêntico ao tipo de onde ela foi retirada*. Na prática, nem todas as células das plantas são totipotentes. As células dos elementos de tubos crivados do floema são anucleadas, portanto, não se dividem e não se diferenciam. As células do cerne, do esclerênquima e do xilema adulto são mortas e, portanto, não são totipotentes. É importante salientar também que nem todas as células vivas e nucleadas vão efetivamente expressar a totipotência, uma vez que essa expressão



depende também da *competência* e da *determinação*, características que variam, dentre outros fatores, em função do tipo e da idade do tecido utilizado como fonte das células. Portanto, nem toda célula viva e nucleada mantém as capacidades de *diferenciação*, *desdiferenciação* e *re-diferenciação*, necessárias à expressão da totipotência celular. Além da produção de clones, a propagação vegetativa permite a reprodução de plantas que não florescem como o alho (apomítica obrigatória) e a redução da juvenilidade e do vigor em certas espécies de plantas.

A grande vantagem da clonagem é a manutenção de caracteres superiores desejáveis (qualidade de frutos, sabor, resistências a fatores adversos bióticos e abióticos, etc.), que geralmente resultam em um maior valor comercial do produto final e/ou numa maior produtividade da planta. Todavia, não apenas os caracteres superiores são preservados. *As características inferiores também são transmitidas aos clones*. Por esse motivo, uma grande uniformidade nos plantios empregando plantas clonadas pode levar à perda de toda a área plantada em decorrência de fatores edafo-climático ou fitopatogênico prejudiciais, uma vez que todos os indivíduos serão sensíveis aos mesmos problemas. Para evitar esses riscos, as grandes empresas de papel e celulose e as grandes usinas de cana-de-açúcar, que têm na clonagem a base de seus plantios, utilizam diferentes clones em suas áreas de plantio, evitando, dessa forma, os riscos da *“vulnerabilidade ou susceptibilidade dos clones”*. Os principais métodos de propagação assexuada (vegetativa) são a estaquia, a mergulhia, a alporquia e a enxertia.

#### Estaquia:

Nesse processo, um segmento (estaca) da planta, geralmente de caule, apresentando pelo menos duas gemas, é colocado para enraizar. Em decorrência do transporte basípeto e polar das auxinas, o enraizamento ocorre na base da estaca. As raízes formadas, nesse caso, são denominadas *adventícias*. No processo de enraizamento, as estacas não podem perder água e, portanto, devem ficar envolvidas em tecidos ou materiais úmidos ou, então, devem ser imediatamente colocadas em água para evitar a dessecação. A época de coleta, o tamanho e o grau de lignificação, dentre outros, são fatores que influenciam no enraizamento das estacas. Geralmente, o enraizamento das estacas é estimulado pela adição de uma auxina (principalmente o AIB), embora possa ocorrer enraizamento mesmo sem a adição desses reguladores de crescimento. Algumas estacas lenhosas necessitam que as suas bases sejam esmagadas (marteladas) para que o enraizamento adventício seja possível. Esse procedimento tem por objetivo romper o *anel de esclerênquima*, conjunto de células mortas que impedem o desenvolvimento dos

primórdios radiculares. Um cuidado fundamental durante os procedimentos de estaquia é a manutenção da polaridade das estacas. A polaridade nas plantas é definida já na primeira divisão do zigoto. Nas estacas, a polaridade é mantida devido ao transporte polar e basípeto (dependente de energia) das auxinas, o que ocorre devido ao posicionamento dos transportadores de auxina (efluxo de AIA), que são ancoradas exclusivamente nas bases das células de parênquima dos tecidos de condução. Portanto, o transporte polar das auxinas sempre ocorre do ápice para a base morfológica da estaca, o que, aparentemente, contribui para o desenvolvimento das raízes nessa região. A estaquia é a técnica mais utilizada em sistemas de produção de mudas de espécies florestais (*Eucaliptus* e *Pinus*) e para algumas espécies frutíferas e ornamentais.

#### Mergulhia:

Nesse processo de propagação, um ramo ainda ligado à planta-mãe é enterrado e preso ao solo (mergulhia) até que o enraizamento ocorra. Após a formação das raízes, as plantas são separadas e se tornam independentes. As “plantas-filhas” apresentam o mesmo genótipo da planta-mãe. A mergulhia é utilizada somente quando a estaquia não funciona. Tal procedimento se justifica pela necessidade, em algumas espécies, da manutenção do fluxo de assimilados e de fitormônios para que o enraizamento seja possibilitado.

#### Alporquia:

Ao contrário da mergulhia, na alporquia é o solo que é levado até os ramos da planta. O solo é ensacado (alporque) na base do caule a ser enraizado. Pode-se fazer um anelamento na base do ramo para evitar a “fuga” de assimilados em direção à base das plantas. Após o enraizamento, o ramo é destacado da planta-mãe. A alporquia, pela sua complexidade, também somente é empregada quando a estaquia não funciona e/ou os ramos não são suficientemente flexíveis.

#### Enxertia:

É uma forma mais complexa de propagação assexuada. Pela técnica, são unidas duas ou mais porções de diferentes indivíduos, provenientes de tecidos somáticos ou de materiais originários de sementes. *O principal objetivo da enxertia é aproveitar as características superiores dos dois ou mais materiais utilizados no processo*. A enxertia pode envolver indivíduos de uma mesma espécie, o que a torna mais simples. Todavia, enxertias entre indivíduos até mesmo de famílias diferentes são relatadas. *A parte basal do sistema de enxertia*, que fica em contato com o solo, sendo responsável pela absorção de água e de nutrientes e pela resistência a diferentes fatores edafo-climáticos e fitopatogênicos do solo é

denominada *porta-enxerto*, *cavalo* ou *hipobioto*. A *parte superior* do sistema, responsável pela produção do produto de interesse (frutos, flores, folhas, etc.) é denominada *enxerto*, *cavaleiro* ou *epibioto*. No processo de enxertia podem ser realizadas *enxertias intermediárias*. Nesse caso, essa(s) porção(ões) recebe(m) a denominação de *interbioto(s)*. Geralmente, o *interbioto* tem por objetivo *unir duas porções incompatíveis (cavalo-cavaleiro)* ou *reduzir o porte* em plantas de vigor excessivo.

O sucesso da enxertia depende diretamente da compatibilidade entre os componentes do sistema. Algumas substâncias como os fitormônios e glicosídeos cianogênicos, dentre outras, podem interferir na compatibilidade e no sucesso da enxertia. Por exemplo, enxertos envolvendo diferentes cultivares de roseira somente são compatíveis quando os teores de glicosídeos-HCN são próximos entre os materiais empregados. Alguns fitopatógenos, como os vírus, por exemplo, podem impedir a soldadura entre as duas porções, dificultando ou impedindo o sucesso na enxertia de algumas espécies. Inúmeros são os processos pelos quais se pode praticar a enxertia. Tais processos podem ser agrupados em três categorias distintas: garfagem, borbulhia e encostia.

A *garfagem* caracteriza-se por empregar para operação de enxertia um segmento de caule ou galho (denominado *garfo*). O tamanho desse segmento é variável, contando normalmente com 2 a 4 gemas. Conforme a região, há diferentes nomes para um mesmo tipo de enxertia, com destaque para as modalidades de garfagem em fenda, garfagem em fenda dupla, garfagem em fenda incrustada, garfagem em fenda lateral, garfagem em meia-fenda, garfagem em fenda a cavalo, garfagem a inglês simples, garfagem a inglês complicado.

Em contraste à enxertia de garfagem, em que o enxerto consiste de um pedaço destacado de tecidos dos ramos com várias gemas, a *borbulhia* utiliza apenas uma gema e uma pequena seção de casca, com ou sem lenho. Os métodos de borbulhia comumente empregados dependem do “escorregamento” da casca. Este termo indica uma condição em que a casca (periderme, córtex, floema e câmbio) pode ser facilmente separada do xilema e, portanto, deve coincidir com o período do ano em que a planta encontra-se em crescimento ativo, quando as células do câmbio estão em divisão e os tecidos recém-formados são facilmente removidos da casca e do lenho. Há diferentes modalidades de enxertia por borbulhia: borbulhia em T normal, borbulhia em T invertido, borbulhia em janela, borbulhia em escudo e borbulhia anelar. Deve-se ter o cuidado de fazer a operação o mais rápido possível, para evitar que ocorra a desidratação e a oxidação da gema

e do porta-enxerto. O amarrio é feito de baixo para cima, utilizando-se uma fita de polietileno, a qual deverá ser retirada tão logo o enxerto tenha brotado.

Apesar de ser o processo de enxertia mais antigo, atualmente a *encostia* é o menos empregado, principalmente quando se trata da propagação de plantas em larga escala, uma vez que esse método é mais complicado, moroso e menos eficiente, além de produzir plantas de pior qualidade. Esse processo consiste em se promover a reunião de ramos de duas plantas, cavalo e cavaleiro, estando esse último ainda ligado à planta-mãe. Os dois ramos são postos em contato mediante cortes neles realizados. A separação do ramo-enxerto só é feita após se verificar a soldadura das duas partes.

Há outras formas especiais de enxertia. Sua utilização em nível comercial é bem mais restrita, mas estas podem ter aplicação em casos particulares. Uma dessas formas especiais de enxertia é a *sobre-enxertia*, na qual o porta-enxerto utilizado é uma planta adulta, já previamente formada. A sobre-enxertia é útil em casos em que a copa foi seriamente danificada por pragas ou doenças, em caso de necessidade de troca da cultivar-copa e quando da falta de plantas polinizadoras em um pomar. Normalmente é feita por garfagem (fenda cheia ou fenda dupla), substituindo total ou parcialmente a copa. Dessa forma, é possível produzir-se, em uma mesma planta, diferentes cultivares ou a formação de copas de diferentes espécies, o que é possível através de enxertias múltiplas. Em uma árvore de citros, por exemplo, é possível enxertar laranja, limão, pomelo, mandarins e limas. Em plantas de pessegueiro existe a possibilidade de se enxertar ameixa, amêndoa, damasco e nectarina. Como algumas espécies apresentam maior vigor, torna-se necessária a realização de podas de condução para se evitar que uma espécie venha se tornar dominante. A *sub-enxertia*, por sua vez, é realizada quando houve um dano significativo no sistema radicular da planta. Ela consiste em se enxertar na copa um novo porta-enxerto, que será total ou parcialmente responsável pela absorção de água e nutrientes. A garfagem, especialmente de fenda dupla, é o sistema mais adotado neste caso. A *enxertia de ponte* é outro tipo interessante de enxertia. Ela é realizada quando a planta apresenta um dano significativo na casca, a ponto de interromper o fluxo de água, nutrientes e assimilados ou quando o sistema radicular da árvore encontra-se viável e a parte-aérea também, embora uma porção do tronco tenha sido comprometida. Estes danos podem ser causados por acidentes, por roedores, pelo frio ou por doenças e, quando apresentam grande extensão quase sempre levam à morte da planta. Neste caso, a enxertia,



normalmente por encostia ou garfagem, permite que sejam colocados ramos sobre a região danificada, de modo a restabelecer o fluxo normal de substâncias.

A propagação vegetativa por estaquia ou por outras técnicas e a enxertia são as principais formas de propagação de diversas espécies frutíferas como dos citros (laranjas, mexericas, etc.), da manga, da uva, da maçã, da pêra, da nêspera, etc. Espécies ornamentais também são propagadas de modo vegetativo, com destaque para a rosa, a violeta, a begônia, etc. Além dessas plantas, outras espécies de destaque no cenário agrícola propagadas de modo vegetativo são as batatas, a mandioca, e a cana-de-açúcar, dentre outras.

### **Maturidade Fisiológica e Reprodução Sexuada:**

*A fase de maturidade fisiológica sucede à juvenilidade.* Ela inicia a partir do momento em que a *planta se torna fisiologicamente adulta, ou seja, competente para receber estímulos internos e externos para o florescimento (mudança de fase).* A maturidade fisiológica difere da maturação, que tem como consequência não a reprodução sexuada, mas a senescência. Além da capacidade de floração as plantas após alcançarem a maturidade fisiológica apresentam características diferentes das observadas durante a juvenilidade. Antes mesmo da primeira floração as plantas adultas apresentam redução do crescimento (*vigor*), o que é intensificado após o aparecimento das flores. As plantas passam a apresentar resposta geotrópica/fototrópica reduzidas e redução nas taxas de enraizamento e sucesso nas enxertias. Além dessas características, a quantidade de espinhos produzidos é menor e a ocorrência de heterofilia não é mais observada. Em resumo, pode-se dizer que as características da fase de maturidade fisiológica são opostas às observadas durante a *juvenilidade*.

A reprodução sexuada envolve a fusão de gametas através da fecundação cruzada ou da auto-fecundação. A principal vantagem da fecundação cruzada é o aumento da variabilidade genética. Nas plantas, o órgão responsável pela reprodução sexuada é a flor. O *Florescimento* consiste em *alterações no padrão de morfogênese e de diferenciação dos meristemas apicais (vegetativos)* dos caules, o que culmina na sua *transformação em pétalas, sépalas, estames e carpelos*, estruturas que, na verdade, *são folhas modificadas*. Os principais genes envolvidos na formação de cada uma dessas estruturas já foram clonados.

Em algumas espécies vegetais existe uma forte correlação entre o aparecimento das flores e as estações do ano, o que sugere alguns questionamentos: - *Como as plantas acompanham o curso das estações do ano?* -

*Quais são os sinais ambientais que controlam e/ou interferem no florescimento? - Como os sinais do ambiente são percebidos pelas plantas? - Como os sinais são traduzidos em respostas de florescimento?* Algumas respostas para essas questões serão apresentadas ao longo desse capítulo.

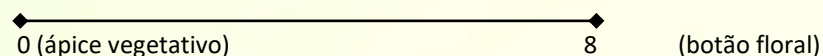
O processo de floração ocorre em três principais etapas: *a)* indução ou evocação floral; *b)* diferenciação das peças florais e; *c)* crescimento do botão floral.

A *evocação floral* envolve eventos que levam à transformação das gemas vegetativas em gemas florais. Dentre os *fatores relacionados* à evocação destacam-se alguns *endógenos* (genes, pigmentos, metabólitos e fitormônios) e outros *ambientais* (comprimento do dia (fotoperíodo), temperatura e umidade, principalmente). A redução do fotoperíodo, por exemplo, resulta em diminuição no suprimento de carboidratos para a parte aérea, sendo que os açúcares apresentam contribuição na transição da juvenilidade para a maturidade fisiológica.

A *evocação autônoma* envolve estritamente fatores endógenos. As respostas envolvendo o fotoperíodo e a vernalização resultam em *respostas sazonais* (estações do ano). Além disso, informações relativas à quantidade de radiação luminosa e à disponibilidade de água também servem como sinalização para o processo de florescimento. Os fatores *endógenos* e os *ambientais*, em conjunto, permitem a *sincronização* do florescimento e, conseqüentemente, o sucesso reprodutivo das espécies. A *mudança da fase juvenil* para a *adulta* é outro fator que interfere no processo de floração. As plantas podem se encontrar em estágio *juvenil* (quando não são capazes de florescer mesmo recebendo estímulos), *adulta vegetativa* e *adulta reprodutiva*. Toda planta pode passar por uma *fase adulta vegetativa*, uma vez que ela pode alcançar a maturidade fisiológica em uma época do ano em que as condições ambientais não são ideais para a indução do florescimento. As mudanças de fase variam de espécie para espécie e estão relacionadas, dentre outros fatores, à disponibilidade de açúcares e às giberelinas.

Sob o ponto de vista macroscópico, o florescimento é observado somente quando o botão floral torna-se visível. Todavia, por se tratar de um processo de *diferenciação* e, portanto, de transformação gradativa, o florescimento envolve diferentes fases ou estádios de desenvolvimento, sendo mais bem compreendido se acompanhado por microscopia, através da dissecação das gemas. Em termos gerais, 9 (nove) estádios de diferenciação podem ser caracterizados, desde a evocação até o final do crescimento do botão floral. O estágio **0** (zero) representa a gema em seu estado vegetativo e o estágio **8** corresponde ao botão floral completamente desenvolvido.

Estádios:



O processo de estímulo das gemas vegetativas à diferenciação para o florescimento (evocação) depende do número de ciclos indutivos recebidos e do estágio de diferenciação. Algumas espécies exigem a manutenção das condições indutivas durante a evocação e também durante o período de diferenciação, enquanto, em outras, o processo de diferenciação para o florescimento torna-se irreversível já em estádios iniciais da diferenciação, independente da manutenção das condições indutivas. A competência e a determinação são duas etapas da evocação. Para iniciar o desenvolvimento floral, as células do meristema vegetativo necessitam primeiro se tornarem competentes. Um meristema vegetativo competente é aquele que pode responder a um estímulo floral (indução pelo fotoperíodo, por exemplo), tornando-se determinado do ponto de vista floral (comprometido em produzir flores). O estado determinado é geralmente expresso, mas pode exigir um sinal adicional, geralmente um ou mais fitormônios.

O relógio biológico também está envolvido no florescimento. Recentemente, alguns componentes do relógio biológico das plantas foram identificados. Nas plantas, como também se observa em outros organismos, o relógio biológico apresenta comportamento circadiano (com duração aproximada de 24 h). O modelo proposto para explicar o funcionamento desse oscilador endógeno (relógio biológico) envolve um sistema de regulação transcricional do tipo *loop-feedback negativo*. Esse sistema é controlado por vários “genes do relógio” que interferem no seu funcionamento. Até o momento, três “genes do relógio” foram identificados em *Arabidopsis*: *TOC1* (aparentemente exclusivo de vegetais), *LHY* e *CCA1*. As proteínas resultantes desses genes são todas de regulação. Segundo o modelo de funcionamento do relógio, a luz e a proteína reguladora *TOC1* ativam a expressão de *LHY* e *CCA1* ao amanhecer. Os aumentos nas proteínas *LHY* e *CCA1* reprimem a expressão do gene *TOC1*. Visto que a proteína *TOC1* é uma reguladora positiva dos genes *LHY* e *CCA1*, reprimir a expressão de *TOC1* causa uma redução progressiva nos níveis de *LHY* e *CCA1*, os quais atingem seus níveis mínimos ao final do dia. Assim que os níveis de *LHY* e *CCA1* declinam, a expressão do gene *TOC1* é liberada da inibição. *TOC1* atinge seu máximo no final do dia, quando *LHY* e *CCA1* estão em seus mínimos. *TOC1*, então, estimula direta ou indiretamente a expressão de *LHY* e *CCA1*, e o ciclo reinicia. As

duas proteínas reguladoras (*LHY* e *CCA1*) têm função dupla. Além de servirem como componentes do oscilador, elas também regulam a expressão de outros genes, tais como *LHCB* e outros genes matutinos, e reprimem os genes expressos à noite. A luz atua para reforçar os efeitos promotores do gene *TOC1* na expressão de *LHY* e *CCA1*. Este reforço representa o mecanismo fundamental de sincronização. Outras proteínas, tais como a quinase *CK2*, afetam a atividade de *CCA1* e, assim, regulam o relógio. O fitocromo e o criptocromo 2 (*CRY2*; fotorreceptor de luz azul) medeiam os efeitos das luzes vermelha e azul, respectivamente.

Os fatores ambientais responsáveis pela sinalização para a diferenciação das gemas vegetativas em gemas florais são, principalmente, a temperatura e o fotoperíodo, que na maioria das vezes atuam juntos. Todavia, fatores endógenos também contribuem para ativação do programa de florescimento. Diversas questões a respeito do florescimento em plantas ainda continuam sem respostas. Entretanto, com o avanço dos estudos de biologia molecular, a participação de genes específicos e de algumas rotas relacionadas à floração tem sido identificada. Para essas descobertas, a caracterização dos genes de identidade dos órgãos florais (genes homeóticos) foi fundamental. Em plantas, os principais genes envolvidos no desenvolvimento das peças florais (genes de identidade dos órgãos florais) são *APETALA* (*AP1*, *AP2*, *AP3*), *PISTILLATA* (*PI*) e *AGAMOUS* (*AG*). Esses genes foram inicialmente identificados por mutações que alteram drasticamente a estrutura e, por consequência, a identidade dos órgãos florais produzidos em dois verticilos adjacentes. Por exemplo, plantas com a mutação *ap2* não têm sépalas ou pétalas. Plantas com mutação em *ap3* ou *pi* produzem sépalas ao invés de pétalas no segundo verticilo e carpelos ao invés de estames no terceiro verticilo. Plantas homocigotas para a mutação *ag* não apresentam estames ou carpelos.

Pelo fato de as mutações nesses genes alterarem a identidade dos órgãos florais sem afetar a iniciação das flores, eles são genes homeóticos, os quais pertencem a três classes - **A**, **B** e **C** - definindo três diferentes tipos de atividades: **1.** A atividade tipo **A**, codificada por *AP1* e *AP2*, controla a identidade dos órgãos no primeiro e segundo verticilos. A perda da atividade tipo **A** resulta na formação de carpelos, em vez de sépalas, no primeiro verticilo e de estames em vez de pétalas, no segundo. **2.** A atividade tipo **B**, codificada por *AP3* e *PI*, controla a determinação dos órgãos no segundo e terceiro verticilos. A perda da atividade tipo **B** resulta na formação de sépalas, em vez de pétalas no segundo verticilo, e de carpelos no lugar de estames no terceiro. **3.** A atividade **C**, codificada por *AG*, controla eventos no terceiro e quarto verticilos. A perda da atividade tipo **C** resulta na formação de



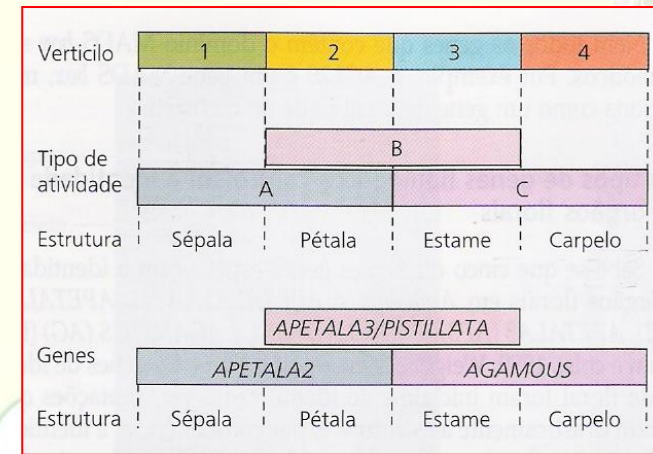
pétalas, e não de estames no terceiro verticilo, além de substituição do quarto verticilo por uma nova flor, de modo que o quarto verticilo da flor do mutante *ag* é ocupado por sépalas,

O papel dos genes de identidade de órgãos no desenvolvimento floral é ilustrado de forma marcante por experimentos nos quais duas ou três atividades são eliminadas por mutações de perda de função. As plantas quádruplo-mutantes (*apl*, *ap2*, *ap3/pi* e *ag*) produzem meristemas florais que se desenvolvem como *pseudoflores*. Todos os órgãos florais são substituídos por estruturas verdes tipo folhas, embora esses órgãos sejam produzidos com uma filotaxia verticilada. Biólogos evolucionistas, a começar pelo poeta, filósofo e naturalista alemão Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832), especularam que os órgãos florais eram folhas altamente modificadas e a experimentação atual tem dado suporte a essas ideias.

O modelo **ABC** explica a determinação da identidade de órgãos florais (Fig. 1). Em 1991, o modelo **ABC** foi proposto para explicar como os genes homeóticos controlam a identidade de órgãos. O modelo **ABC** postula que a identidade dos órgãos em cada um dos verticilos florais é determinada por uma combinação única das atividades de três genes de identidade de órgãos: A atividade do tipo **A** sozinha especifica sépalas. As atividades dos tipos **A** e **B** são necessárias para a formação de pétalas. As atividades de **B** e **C** formam estames. A atividade de **C** sozinha especifica carpelos. O modelo propõe, ainda, que as atividades **A** e **C** se reprimem mutuamente. Isto é, os genes dos tipos **A** e **C** possuem função cadastral, além de suas funções na determinação da identidade de órgãos.

Os padrões de formação dos órgãos no tipo selvagem e na maioria dos fenótipos mutantes são previstos e explicados pelo modelo **ABC**. O desafio agora é entender como o padrão de expressão desses genes de identidade de órgãos é controlado pelos genes cadastrais, como os genes de identidade de órgãos que codificam fatores de transcrição alteram o padrão de outro gene expresso no órgão em desenvolvimento e, finalmente, como esse padrão alterado de expressão gênica resulta no desenvolvimento de um órgão floral específico.

Além dos *genes de identidade dos órgãos florais* (genes homeóticos), outras duas classes de genes regulam o desenvolvimento floral: os *genes cadastrais*, que atuam como reguladores espaciais dos genes de identidade dos órgãos florais, definindo os limites da sua expressão e, os *genes de identidade dos meristemas*, que são necessários para a indução inicial dos genes de identidade de órgãos. Eles são os reguladores positivos da identidade dos órgãos florais. Os principais genes de identidade dos meristemas em *Arabidopsis* são o *AGAMOUS-LIKE 20* e o *LEAFY*.



**FIGURA 1.** O modelo **ABC** para a aquisição da identidade de órgão floral está baseado nas interações de três tipos diferentes de atividades de genes homeóticos florais: **A**, **B** e **C**. No primeiro verticilo, a expressão do tipo **A** (*AP2*) sozinho resulta na formação de sépalas. No segundo, a expressão dos tipos **A** (*AP2*) e **B** (*AP3/PI*) resulta na formação de pétalas. No terceiro verticilo, a expressão do **B** (*AP3/PI*) e **C** (*AG*) causa a formação de estames. No quarto verticilo, a atividade **C** (*AG*) sozinha especifica carpelos. Além disso, a atividade **A** (*AP2*) reprime a atividade **C** (*AG*) nos verticilos 1 e 2, enquanto a atividade **C** reprime a atividade **A** nos verticilos 3 e 4.

Resultados de estudos genéticos e moleculares recentes estabeleceram a existência de quatro rotas de desenvolvimento distintas no controle do florescimento em *Arabidopsis*:

#### a) Rota fotoperiódica:

Essa rota envolve os fitocromos (*PHYA* e *PHYB*, têm efeitos contrastantes sobre o florescimento) e os criptocromos (fotorreceptor de luz azul). A interação desses fotorreceptores com o relógio circadiano inicia uma rota que por fim resulta na expressão do gene *CONSTANS* (*CO*), responsável pela codificação de um fator de transcrição promotor de florescimento (*AGAMOUS-LIKE 20 - AGL20*). O gene *CO* atua como intermediário de outros genes para *aumentar* a expressão do gene *LEAF* (*LFY*; gene de identidade do meristema floral).

#### b) Rota dupla autônoma/vernalização:

Por essa rota, o florescimento ocorre em resposta a sinais internos (produção de um número fixo de folhas ou indução por temperaturas baixas, principalmente). Em *Arabidopsis*, todos os genes associados à rota autônoma são

expressos no meristema. A rota autônoma atua reduzindo a expressão do gene repressor do florescimento *LOCUS C DO FLORESCIMENTO (FLC)*, um inibidor de *LFY*. A vernalização também reprime *FLC*, mas por outro mecanismo (interruptor epigenético). As rotas *autônoma* e de *vernalização* são agrupadas uma vez que o gene *FLC* é um alvo comum a ambas.

c) Rota dos carboidratos ou da sacarose:

Reflete o estado metabólico da planta. A sacarose estimula o florescimento em *Arabidopsis* pelo aumento da expressão de *LFY*, embora a rota genética desse processo ainda seja desconhecida.

d) Rota das giberelinas:

É necessária ao florescimento precoce ou para o florescimento sob dias curtos não indutivos.

Todas as quatro rotas convergem, aumentando a expressão do gene-chave de identidade do meristema floral *AGAMOUS-LIKE 20 (AGL20)*. O papel de *AGL20* (um fator de transcrição) é integrar os sinais oriundos de todas as quatro rotas em uma saída única. Obviamente, o sinal de saída mais forte ocorre quando as quatro rotas estão ativas. Uma vez ligado pelo *AGL20*, o gene *LFY* ativa os genes homeóticos florais *AP1*, *AP2*, *AP3*, *PI* e *AG*, necessários ao desenvolvimento dos órgãos florais. *AP2* é expresso tanto em meristemas vegetativos quanto em meristemas florais, não sendo, portanto, afetado por *LFY*. No entanto, *AP2* exerce efeito negativo sobre *AG*. Além de servir como gene homeótico floral, *AP1* funciona como um gene de identidade de meristemas em *Arabidopsis*, por que ele está envolvido em um circuito de *feedback* positivo com *LFY*. Consequentemente, uma vez que a transição para o florescimento atingiu este estágio, o florescimento torna-se irreversível.

A existência de rotas múltiplas confere *flexibilidade* para a reprodução em *Arabidopsis* em diferentes condições ambientais. A redundância dentro das rotas faz com que a reprodução, a função fisiológica mais crucial de todas, seja relativamente insensível às mutações e evolutivamente resistente. Como um grande número de plantas apresenta *florescimento dependente das informações do ambiente*, é possível entender o expressivo florescimento observado em algumas espécies durante as diferentes estações do ano, especialmente na *primavera*.

**Fotoperiodismo (Rota Fotoperiódica):**

Dos fatores ambientais relacionados à floração, o fotoperiodismo é o mais conhecido. O *fotoperiodismo* reflete a *capacidade e/ou a habilidade dos organismos*

*em detectar (medir) o comprimento do dia*, tornando possível a ocorrência de eventos em determinadas épocas do ano (respostas sazonais). Os processos relacionados ao fotoperiodismo respondem a ciclos de *luz e escuro*. Os *ritmos circadianos* (com duração de aproximadamente 24h) são uma clara evidência da existência e do funcionamento do relógio biológico nas plantas. A abertura das flores e outros movimentos das folhas ocorrem de modo sincronizado, o que está intimamente relacionado aos mecanismos envolvidos no florescimento. Nesses fenômenos, a participação de pigmentos específicos como os fitocromos e criptocromos é fundamental para a sincronização do processo. Os ritmos circadianos e o fotoperiodismo têm em comum a capacidade de responderem a ciclos de luz e escuridão. Aparentemente, todas as respostas fotoperiódicas utilizam os mesmos fotorreceptores, embora as vias específicas de transdução dos sinais subsequentes regulem as respostas diferenciais. O oscilador circadiano fornece um mecanismo autônomo de medição de tempo que serve como ponto de referência para a resposta à entrada de sinais da luz ou do escuro provenientes do ambiente.

As plantas podem ser classificadas com base em suas repostas fotoperiódicas. Muitas plantas florescem durante dias longos de verão e, por esse motivo, durante vários anos, os fisiologistas acreditavam em alguma correlação com os produtos da fotossíntese acumulados sob condições de dias longos. Entretanto, Garner e Allard demonstraram que essa hipótese não era correta. Em experimentos com plantas do mutante de fumo Maryland Mammoth, esses pesquisadores demonstraram que as plantas, durante o verão, cresciam vegetativamente até 5 m de altura sem apresentar florescimento. Por outro lado, essas plantas floresciam em casa de vegetação durante o inverno, época em que a duração do período iluminado é menor. Garner e Allard concluíram que o comprimento do dia era o fator determinante para o florescimento, confirmando essa hipótese para diferentes espécies. A classificação das plantas de acordo com a resposta fotoperiódica é geralmente feita com base no florescimento, mesmo que outros aspectos do seu desenvolvimento possam ser afetados pelo comprimento do dia.

Nas plantas *fotoperiódicas*, o *florescimento ocorre abaixo ou acima de um determinado valor, denominado fotoperíodo crítico*. O *fotoperíodo crítico* representa o *número máximo ou mínimo de horas de iluminação nos quais o florescimento é estimulado*. Em termos de resposta fotoperiódica, as plantas podem ser classificadas em três grupos principais:



a) Plantas de Dias Curtos (PDC):

Nas PDC o florescimento somente ocorre quando elas são mantidas em fotoperíodo menor que o crítico (qualitativas) ou o processo de florescimento é estimulado (quantitativas). Ex.: soja.

b) Plantas de Dias Longos (PDL):

Nas PDL o florescimento somente ocorre quando elas são mantidas em fotoperíodo maior que o crítico (qualitativas) ou o processo de florescimento é estimulado (quantitativas). Ex.: trigo.

c) Plantas Neutras ou Indiferentes (PDN):

As espécies que florescem em qualquer condição de fotoperíodo são referidas como *Plantas de Dias Neutros* (PDN), sendo insensíveis ao comprimento do dia. O florescimento das PDN's está tipicamente sob regulação *autônoma*, isto é, sob o controle do desenvolvimento interno. Algumas espécies com essa característica evoluíram e são típicas das regiões equatoriais, onde o comprimento do dia varia muito pouco ao longo do ano. Algumas plantas de desertos que precisam germinar e florescer, produzindo suas sementes, em períodos de tempo muito reduzidos (períodos úmidos) também são classificadas como PDN. Outras plantas evitam a ambiguidade sazonal por meio da distinção entre dias que estão encurtando (outono → inverno) e dias que estão alongando (primavera → verão). Estas plantas com dualidade de dia (condição de fotoperíodo) se enquadram em duas categorias:

- Plantas de Dias Longo-Curtos (PDLC):

Inclui espécies que florescem somente após uma sequência de dias longos seguidos por dias curtos. Plantas que se enquadram nessa categoria de resposta fotoperiódica florescem no final do verão e outono, quando os dias estão encurtando.

- Plantas de Dias Curto-Longos (PDCL):

Inclui espécies que florescem somente após uma sequência de dias curtos seguidos por dias longos. Plantas que se enquadram nessa categoria de resposta fotoperiódica florescem no início da primavera em resposta ao aumento do fotoperíodo.

É interessante notar que, embora algumas plantas floresçam apenas em dias muito longos ou curtos, para outras, o valor absoluto em termos de número de horas não é importante, e sim se a planta se encontra em um fotoperíodo abaixo ou acima de um determinado valor crítico. Tal fato explica, por exemplo, a ocorrência de floração em PDC e em PDL em uma mesma localidade na mesma estação do ano.

Em função disso, é possível que PDC e PDL apresentem valores idênticos de fotoperíodo crítico. Também é possível que PDCs apresentem fotoperíodos críticos numericamente longos, enquanto as PDL podem apresentar fotoperíodos críticos numericamente curtos. Por exemplo, uma PDC, com fotoperíodo crítico de 15 h, e uma PDL, com fotoperíodo crítico de 13 h, florescem em uma mesma localidade se o fotoperíodo disponível for de 14 horas. A distinção essencial entre plantas de dias longos ou de dias curtos é resultante das observações de que as PDL somente florescem quando o comprimento do dia *excede* certa duração em cada ciclo de 24 h, sendo que a promoção do florescimento em PDC requer um comprimento do dia *menor* que um determinado valor crítico.

Para as plantas fotoperiódicas a indução floral (evocação) é a parte mais crítica, uma vez que o processo se dá por acúmulo ou somatório. Em soja (PDC), por exemplo, **15** ciclos indutivos são necessários para florescer. Se com **12** ciclos as plantas forem transferidas para dias longos (fotoperíodo maior que o crítico, não indutivo), ocorre reversão do efeito acumulado e desdiferenciação das gemas, permanecendo a planta em estágio vegetativo. O valor crítico de comprimento do dia varia amplamente entre as espécies e somente quando o florescimento é examinado para uma ampla faixa de fotoperíodos, é que se torna possível o estabelecimento de uma classificação fotoperiódica correta para uma determinada espécie. Um número reduzido de plantas apresenta requerimentos de comprimento do dia mais especializados. As *plantas de dias intermediários* florescem somente entre limites estreitos de comprimento do dia. Plantas em outra categoria especial, denominadas *ambifotoperiódicas*, florescem em *dias longos ou curtos, mas não sob condições intermediárias* de comprimento do dia. O florescimento em muitas espécies não é regulado pelo comprimento do dia, sendo as plantas que se enquadram nesse grupo denominadas *Plantas de Dias Neutros* (PDN) ou indiferentes ao fotoperíodo.

Algumas plantas de dias longos podem efetivamente medir o comprimento do dia na primavera ou no início do verão, atrasando o seu florescimento até que o comprimento crítico do dia seja alcançado. Diversas variedades de trigo apresentam este comportamento. Algumas plantas de dias curtos florescem frequentemente no outono, quando os dias ficam mais curtos que um determinado comprimento crítico, tal como em certas variedades de crisântemo. Entretanto, o comprimento do dia, isoladamente, às vezes, torna-se um sinal ambíguo, uma vez que ele não permite a distinção entre a primavera e o verão. As plantas utilizam várias estratégias para evitar essa ambiguidade. Uma delas é o acoplamento da

temperatura como requerimento complementar à resposta fotoperiódica. Outra estratégia diferente para se evitar a ambiguidade sazonal implica na existência de algum mecanismo para a distinção entre o prolongamento e o encurtamento dos dias. Alguns animais apresentam tal mecanismo, embora o mesmo não tenha sido comprovado em plantas.

Principalmente para PDC, a duração da *noite* é mais importante do que a duração do *dia*, o que está diretamente relacionado a características do fitocromo, pigmento que possibilita a “determinação” da duração do comprimento do dia (fotoperíodo), enviando essas informações ao relógio biológico. Tal fato foi demonstrado com a realização de experimentos de interrupção da noite com *flashes* de luz (“quebra da noite”). A “quebra da noite” impede a floração em PDC. Todavia, a interrupção de um dia longo com um breve período de escuro não interfere (ou cancela) os efeitos de um dia longo. Isso explica a floração controlada de algumas espécies ornamentais como o crisântemo e a violeta, por exemplo.

Outros experimentos demonstraram a importância dos ciclos de luz/escuro no controle do florescimento. Os resultados desses estudos confirmaram que o florescimento em PDCs é determinado primariamente pela duração do período escuro. Por exemplo, é possível induzir florescimento em PDCs submetidas a um período de iluminação mais longo do que o valor crítico desde que esse período seja seguido de um suficiente aumento no comprimento da noite. De modo similar, PDCs não florescem quando dias curtos (menores que o valor crítico) são seguidos de noites também curtas. Experimentos mais detalhados demonstraram que o cronômetro em PDCs é de fato um medidor da duração da noite. Em algumas situações, a duração da noite também se mostra importante para PDLs. Essas plantas somente são induzidas ao florescimento em dias curtos se o comprimento da noite também for curto. Contudo, dias longos seguidos de noites longas são ineficazes na indução de florescimento.

A importância do período escuro é demonstrada em estudos de interrupção da noite com uma exposição breve à luz (“quebra da noite”), o que resulta no impedimento do florescimento em PDCs. Em contraste, a interrupção de um dia longo com um breve período de escuro não cancela os efeitos de um dia longo para as PDLs. Tratamentos de quebra da noite por apenas alguns poucos minutos são efetivos para evitar o florescimento em muitas PDCs. Contudo, exposições bastante longas são frequentemente requeridas para promover a floração em PDLs. Adicionalmente, os efeitos da quebra da noite variam de acordo com o momento em que é efetuada a interrupção. Tanto para as PDCs quanto para as PDLs, a quebra

da noite é mais efetiva quando ocorre próxima à metade do período escuro. Entretanto, quando períodos de escuro consideravelmente longos são dados, percebe-se que o ponto de máxima sensibilidade à quebra da noite está relacionado ao momento de início da escuridão. A descoberta dos efeitos da quebra da noite e da sua dependência com o momento de aplicação apresentou importantes consequências para o esclarecimento dos efeitos do fotoperíodo. Esses estudos possibilitaram o estabelecimento do papel central do período escuro, fornecendo uma comprovação valiosa para estudos do cronômetro fotoperiódico. Uma vez que somente pequenas quantidades de luz são necessárias, foi possível o estudo da ação e a identificação dos fotorreceptores sem a interferência da fotossíntese e de outros fenômenos não-fotoperiódicos. Essas descobertas possibilitaram o desenvolvimento de metodologias para a regulação da época de florescimento em plantas cultivadas de interesse agrícola e ornamental.

Os fenômenos fotoperiódicos encontram-se sobre influência direta do fitocromo. A inibição do florescimento em PDC pela quebra da noite com a aplicação de luz vermelha foi o primeiro processo fisiológico submetido ao controle do fitocromo demonstrado na literatura. Em muitas PDC, a quebra da noite somente é efetiva quando promove a conversão do Fv à forma Fve, impossibilitando o florescimento. A subsequente exposição das plantas à luz vermelho-longo, que promove a fotoconversão do pigmento da forma Fve para a forma Fv, restaura a resposta de florescimento.

A cooperação entre o fitocromo e o relógio biológico no fotoperiodismo pode ser resumida da seguinte forma. A planta determina, com a participação do fitocromo, se a luz encontra-se disponível. Com o auxílio do relógio biológico, ela determina como reagir quantitativa e qualitativamente à luz. O ambiente apresenta um papel duplo. Primeiramente, ele pode decidir se o relógio interno vai correr ou não. Posteriormente, a *precisão* com que esse relógio interno corre é determinada pela periodicidade exógena, por exemplo, em decorrência de mudanças naturais no regime de luz e escuro. O sucesso reprodutivo das variedades de plantas é frequentemente dependente de seu florescimento, que, por sua vez, deve ser adaptado ao ambiente em que elas vivem. Esta adaptação envolve a regulação da floração por estímulos ambientais como a temperatura e o comprimento do dia.

Experimentos clássicos de enxertia em plantas de fumo e de outras espécies mostraram que a duração do dia é detectada pelas folhas e que o sinal é, então, transmitido para as gemas apicais, promovendo a sua diferenciação em gemas florais. A utilização de plantas de *Arabidopsis* dos ecótipos *Landsberg erecta* e



*Columbia* contribuiu bastante para o entendimento dos processos de controle do florescimento. Plantas desses ecótipos florescem após três semanas sob condições de DL mas não florescem antes de cinco semanas se mantidas sob condições de DC. O meristema apical de plantas de *Arabidopsis* crescidas por 30 dias sob condições de DC interrompe a produção de primórdios foliares e começa a produzir primórdios florais com poucas horas após as plantas serem transferidas para condições de DL. Em resposta a essas mudanças fotoperiódicas, alterações nas taxas de divisão celular mudam a forma do meristema apical e o primórdio produzido nos flancos do meristema origina flores ao invés de folhas. A velocidade com que as primeiras flores desenvolvem após as plantas serem transferidas da condição de DC para DL sugere que, em *Arabidopsis*, o sinal das folhas pode atuar diretamente no primórdio existente, modificando sua identidade. O desenvolvimento de órgãos quiméricos mostrando características tanto de folhas quanto de flores no último nó formado antes da indução do primórdio floral também suporta a idéia de que o estímulo floral atua diretamente no primórdio, conferindo-lhe a identidade floral. Em 1936, Erwin Bunning propôs que o controle do florescimento efetuado pelo fotoperiodismo seria ativado por uma oscilação de fases com diferentes sensibilidades à luz. A hipótese de Bunning sugere duas fases alternativas, uma exigindo 12 h de escuridão e a outra necessitando de 12 h de iluminação. De acordo com essa hipótese, a luz apresenta dois papéis distintos nos processos de florescimento. Inicialmente, o sinal luminoso, ao amanhecer e no entardecer, atua como “zeitgebers” ou agente sincronizador, ajustando ou determinando a fase do ritmo fotoperiódico. Adicionalmente, o ritmo tem uma fase sensível à luz, denominada fase induzível. Quando o sinal luminoso é recebido nessa fase do ritmo, o efeito é de promoção ou de prevenção à indução floral.

A medição do tamanho do dia (fotoperíodo) é realizada principalmente com a participação do fitocromo, cromoproteína que se apresenta sob duas formas fotorreversíveis: a Forma Fv, com máxima absorção luminosa em 660 nm e, a forma Fve, com máxima absorção luminosa em 730 nm. Quando a forma Fv recebe radiação vermelha essa é convertida à forma Fve. Por sua vez, o inverso acontece quando a forma Fve é iluminada com radiação vermelho-longo, com a sua conversão para a forma Fv. As conversões em presença de luz são rápidas, ao passo que a reversão no escuro da forma Fve para a forma Fv ocorre lentamente. Durante a maior parte do dia há um predomínio de radiação vermelha sobre a radiação vermelho-longo (60/40% em média), o que torna predominante a forma Fve. A quebra da noite com a ligação de lâmpadas altera a proporção das duas formas do

fitocromo o que resulta em excesso da forma Fve no início do próximo dia. Tal fato resulta em inibição no florescimento de PDC e em promoção do florescimento em PDL.

A tabela a seguir apresenta exemplos de plantas nas diferentes classes de respostas fotoperiódicas:

PDC	PDL	PDCL	PDLC	PDN
Soja	Aveia	<i>Bryophyllum</i>	<i>Trifolium repens</i> (trevo-branco)	<i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão)
Milho	Trigo	<i>Kalanchoe</i>	<i>Campanula medium</i> (campainha)	<i>Castilleja chromosa</i>
Morango	Beterraba	<i>Cestrum nocturnum</i>	<i>Echeveria harmsii</i>	<i>Abronia villosa</i>
Fumo (tabaco) <i>Xanthium</i> (carrapicho)	<i>Arabidopsis</i>			

As plantas diferem bastante na idade em que elas se tornam sensíveis ao estímulo para a vernalização. Plantas anuais de inverno, como o trigo e outros cereais, por exemplo, respondem muito cedo, podendo ser vernalizadas ainda no estágio de sementes (pós-embebição). Outras plantas, incluindo a maioria das espécies bienais (crescem como rosetas no primeiro ano e florescem apenas no ano seguinte), precisam atingir um tamanho mínimo antes de se tornarem sensíveis às baixas temperaturas indutoras de vernalização. Outras espécies, como a cenoura, por exemplo, também precisam sofrer vernalização para florescer.

As regiões de sensibilidade ao estímulo da vernalização são os meristemas apicais do caule. O resfriamento apenas do ápice caulinar provoca o florescimento em plantas nas quais o restante do corpo é mantido em temperaturas de não indução. A faixa de temperatura para a vernalização varia de pouco abaixo da temperatura de congelamento até cerca de 10°C, com uma faixa ótima bastante ampla entre 1 e 7°C. Os efeitos da vernalização aumentam com o prolongamento da duração do tratamento de frio até que a resposta fique saturada. A resposta geralmente requer várias semanas de exposição a baixas temperaturas, mas a duração precisa varia com as espécies e, até mesmo, entre variedades de uma espécie. A vernalização pode ser perdida como resultado da exposição a condições de desvernalização (temperaturas elevadas). Todavia, quanto maior for a exposição a baixas temperaturas, mais permanente será o efeito da vernalização. A exigência

por vernalização geralmente é atrelada a uma exigência por fotoperíodos específicos. A combinação mais comum é a exigência de frio, seguida de uma exigência de dias longos, uma combinação que leva ao florescimento no começo do verão nas grandes latitudes.

A vernalização pode envolver mudanças epigenéticas na expressão gênica. Em ecótipos anuais de inverno de *Arabidopsis*, que requerem tanto vernalização quanto dias longos para florescerem, um gene que atua como repressor do florescimento foi identificado, o *LOCUS C DE FLORESCIMENTO (FLC)*. O *FLC* é fortemente expresso em meristemas apicais do caule de plantas não vernalizadas. Após a vernalização, este gene é desligado epigeneticamente (por um mecanismo desconhecido) pelo resto da vida da planta, permitindo que ocorra o florescimento em resposta aos dias longos. Na próxima geração, no entanto, o gene é religado, restaurando a necessidade por frio. Assim, em *Arabidopsis*, o estado de expressão de *FLC* representa um determinante importante da competência dos meristemas.

#### Florescimento e Sinalização Bioquímica:

Embora a evocação floral ocorra nos meristemas apicais das partes aéreas, alguns eventos que resultam na evocação são desencadeados por sinais bioquímicos que chegam aos ápices provenientes de outras partes da planta, especialmente das folhas. Na década de 1930, Mikhail Chailakhyan, um fisiologista Russo, postulou a existência de um hormônio universal de florescimento em plantas, que ele denominou *florigeno*. Segundo a *Teoria do florigeno* (Chailakhyan, 1937), *sob condições fotoperiódicas indutivas ocorre a produção de um sinal bioquímico (florigeno) nas folhas. Esse sinal é rapidamente translocado (via floema) para o ápice onde estimula a transformação (diferenciação) das gemas vegetativas em gemas florais.*

As evidências que apóiam a Teoria do florigeno provêm de experimentos pioneiros com a utilização de enxertias, nas quais receptores não-induzidos foram estimulados a florescer ao receberem enxertos de folhas ou de caules de plantas doadoras induzidas fotoperiodicamente. Estudos com combinações variadas de plantas induzidas e não induzidas apresentam resultados positivos para a floração. O quadro a seguir apresenta alguns exemplos:

Espécie doadora (induzida) *Condição de cultivo (DL ou DC)	Classificação fotoperiódica da espécie doadora	Espécie receptora (não-induzida) *Condição de cultivo (DL ou DC)	Classificação fotoperiódica da espécie receptora	Resultado
<i>Perilla crispa</i> - DC	PDC	<i>Perilla crispa</i> - DL	PDC	Florescimento da planta receptora
<i>Nicotiana sylvestris</i> - DL	PDL	<i>Maryland mammoth</i> - DL	PDC	Florescimento da planta receptora
<i>Glycine max</i> var. agate	PDN	<i>Glycine max</i> var. biloxi - DL	PDC	Florescimento da planta receptora
<i>Nicotiana tabacum</i> var. trapezond	PDN	<i>Nicotiana sylvestris</i> - DC	PDL	Florescimento da planta receptora

Em *Perilla crispa*, uma espécie da família das mentas, o movimento do estímulo floral de uma folha doadora para o porta-enxerto, por meio do ponto de união da enxertia, correlacionou-se fortemente com a translocação de assimilados marcados com <sup>14</sup>C do doador, e esse estímulo dependeu do estabelecimento da continuidade vascular através do ponto de união da enxertia. Tais estudos confirmam outros anteriores envolvendo o anelamento dos vasos do floema, que demonstraram que o estímulo floral é translocado juntamente com os assimilados.

Outros resultados experimentais também apóiam a teoria do florigeno. Por exemplo, a indução de uma única folha, sob condições adequadas de florescimento, é suficiente para promover o florescimento em toda a planta de soja, mesmo que as demais porções estejam sob condições não indutivas. Experimentos de indução indireta indicam que o estímulo floral também se auto-propaga. Pelo menos em três casos, *Xanthium* (PDC), *Bryophyllum* (PDCL) e *Silene* (PDL), o estado induzido parece se auto-propagar. Isto significa que folhas jovens desenvolvidas na planta receptora, após ela ter sido induzida a florescer por uma única folha doadora, podem ser usadas como folhas doadoras em enxertias subsequentes, mesmo que elas nunca tenham sido submetidas a um fotoperíodo indutivo (indução indireta). Esse tipo de comportamento indica que o estímulo floral, provavelmente, é uma molécula que induz a sua própria produção em um circuito *feedback positivo*. Em carrapicho (*Xanthium*, PDC), a remoção de todas as gemas da parte aérea bloqueia a indução indireta, indicando que o tecido meristemático, ou talvez, o AIA, seja necessário para a propagação do estado induzido. Todavia, nem todas as plantas podem sofrer indução indireta. Em *Perilla* (PDC), apenas a folha que de fato recebeu o fotoperíodo indutivo é capaz de transmitir o estímulo floral em



experimentos de enxertia. Dessa forma, o estímulo floral em *Perilla* não se auto-propaga, o que sugere que ou o mecanismo para um circuito de *feedback positivo* não está presente nas suas folhas ou a translocação do estímulo floral restringe-se ao meristema, de modo que ele nunca entra na folha.

Até o momento, as tentativas de isolamento dos reguladores florais transmissíveis não foram bem sucedidas, o que fez com que a *teoria do florigeno* não fosse confirmada. O mesmo ocorreu com a *vernalina*, hormônio hipotético produzido em plantas que necessitam de vernalização para florescerem. A existência de um hormônio único de floração é pouco provável com os resultados obtidos até o momento. Estudos recentes em *Arabidopsis* utilizando marcadores fluorescentes têm evidenciado a redução no tráfego de pequenas moléculas das folhas para o ápice caulinar via plasmodesmas, o que indica uma redução no transporte simplástico geral para o ápice caulinar ou a mudança na seletividade dos plasmodesmas durante a indução floral. Existem evidências crescentes de que o tráfego macromolecular em células via plasmodesmas desempenha papel essencial no desenvolvimento e no funcionamento normal dos meristemas. A translocação no floema de pequenos mRNAs foi recentemente associada à propagação de um mecanismo de resistência viral através da planta. Portanto, é possível que o estímulo floral seja uma macromolécula, como o RNA ou uma proteína, que é translocada através do floema, das folhas para os meristemas, onde funciona como um regulador da expressão gênica. No entanto, até o momento, as tentativas para identificar esse sinal químico não foram bem sucedidas. Apesar dos dados inequívocos dos experimentos de enxertia, mostrando que fatores transmissíveis regulam o florescimento, as substâncias envolvidas na resposta permanecem desconhecidas. Os esforços no sentido de se isolar um inibidor de florescimento específico (*anti-florigeno*) e transmissível por enxertia também foram mal sucedidos.

Algumas substâncias de natureza hormonal, como as giberelinas e o etileno, comprovadamente, estimulam o florescimento em determinadas espécies. Estudos recentes sugerem que as giberelinas promovem o florescimento em *Arabidopsis* ativando a expressão do gene *LFY*. As giberelinas estão diretamente envolvidas na promoção do florescimento de PDL mantidas em fotoperíodos não indutivos (dias curtos). Todavia, seus efeitos sobre PDC mantidas em dias longos (não indutivos) não são eficazes. O etileno é o principal fitormônio relacionado ao florescimento em Bromeliaceae (abacaxis e bromélias ornamentais), sendo, contudo um hormônio indutor de senescência e morte para tecidos de diversas espécies. Esses

resultados sugerem que o estímulo floral pode ser composto por vários constituintes, que podem ser específicos entre grupos distintos de plantas.

Um avanço importante foi a identificação do gene *FT* em *Arabidopsis*, por meio de triagens genéticas (Fig. 2). De acordo com o modelo de coincidência, o florescimento em LDPs, como *Arabidopsis*, ocorre quando o gene *COS* é expresso durante o período de luz. A expressão do gene *CO* parece atingir o nível mais alto nas células companheiras do floema de folhas e caules. O gene-alvo a jusante de *CO*, *FLOWERING LOCUS T (FT)*, também é expresso especificamente nas células companheiras. *CO* parece atuar especificamente no floema de folhas, para estimular o florescimento em resposta a dias longos. Além disso, o florescimento pode ser induzido no mutante *co* pela enxertia de ramos transgênicos que expressam *CO* no floema de suas folhas. Essa observação sugere que a expressão de *CO* origina um estímulo floral transmissível via enxertia que pode provocar o florescimento no meristema apical. Em plantas de arroz, uma SDP, o homólogo *CO Hd1* atua como um inibidor do florescimento. Durante condições indutivas de dias curtos, no entanto, a proteína *Hd1* não é produzida. A ausência de *Hd1* estimula a expressão do gene *Hd3a* nas células companheiras (floema) (*Hd3a* é correspondente a *FT*). A proteína *Hd3a* é, então, translocada via tubos crivados para o meristema apical, onde se acredita que estimule o florescimento por meio de uma rota similar àquela em *Arabidopsis*.

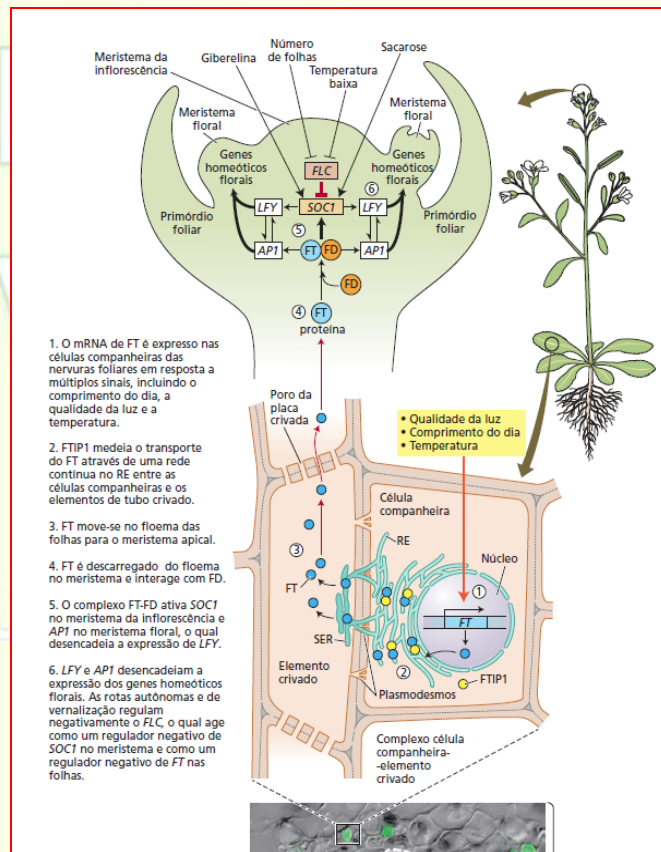
Anteriormente, baseado em observações de que as giberelinas promovem a floração de PDL mantidas em DC, mas não induzem a floração de PDC em DL, foi proposto que o hormônio floral produzido nas folhas seria composto por duas substâncias: as *giberelinas*, fatores limitantes em plantas fotoperiódicas mantidas em DC e as *antesinas*, fatores limitantes sob condições de dias longos. Essa teoria foi conhecida como a *Teoria do Florigeno Modificada*. Todavia, as *antesinas* também nunca foram identificadas.

Estudos envolvendo enxertia também indicaram a existência de inibidores transmissíveis ("*anti-florigenos*") na regulação do florescimento. Embora a identificação dessa(s) substância(s) não tenha(m) sido conseguida(s), resultados experimentais demonstraram a interferência de inibidores florais, o que culminou com a proposta da *Teoria dos Inibidores Florais*. Pela teoria, sob condições não indutivas, a planta poderia, além de não produzir o fator estimulador da floração, sintetizar inibidores da floração. Por exemplo, o enxerto de um ramo folhoso da PDL *Nicotiana sylvestris* no cultivar *Trapezond* de tabaco (PDN) suprime o florescimento nessa cultivar, quando mantida sob condições de dias curtos (mas

não sob condições de dias longos). Por outro lado, quando um doador não induzido da PDC *Maryland Mammoth* é enxertado em *Trapezond*, ele não apresenta nenhum efeito sobre o florescimento, sob condições de dias longos ou curtos. Este e outros resultados sugerem que as folhas de PDL, mas não as de PDC, produzem inibidores de florescimento sob condições não indutivas. Plantas de algumas espécies crescendo sob condições desfavoráveis à floração aparentemente também produzem um ou mais inibidores, uma vez que elas somente florescem quando folhas não induzidas são cortadas. Tal fato foi observado para plantas de *Chenopodium amaranticolor* (PDC) e de *Hyoscyamus niger* (PDL), por exemplo.

Essas observações sugerem que a transição para o florescimento deve envolver um sistema complexo de fatores que interagem, incluindo entre outros, os carboidratos, as giberelinas, as citocininas e, em Bromeliaceae, o etileno. *Sinais transmissíveis gerados nas folhas são necessários para a determinação do ápice caulinar, tanto em espécies reguladas autonomamente quanto nas fotoperiódicas.* Esclarecer se tais sinais transmissíveis consistem de componentes simples ou múltiplos é um desafio importante para o futuro.

Como as giberelinas substituem a necessidade de vernalização (em aveia) e de dias longos para PDL cultivadas em dias curtos; como as auxinas e o etileno promovem a floração em abacaxi e em outras bromélias; como o ABA induz floração em algumas espécies de plantas (*Chenopodium* e *Fragaria*), inibindo em outras (*Sinapis*, *Lolium*); - é grande a possibilidade de que a transformação do meristema vegetativo em floral não seja controlada por um inibidor ou promotor específico de floração, mas, sim, pelo balanço entre os hormônios e outras substâncias promotoras e inibidores do processo. Esta possibilidade é a base da *Teoria do Balanço entre Promotores e Inibidores de Florescimento*. Por essa teoria, a floração não seria induzida por uma única substância, mas, sim, por um balanço entre substâncias promotoras e inibidoras de floração. Temperatura, luz, água e fotoperíodo são fatores ambientais importantes para a indução da floração, podendo apresentar efeitos diretos sobre a produção desses inibidores/promotores de floração. Quando a proporção dos promotores supera a dos inibidores, são criadas condições para que os meristemas vegetativos se diferenciem em gemas florais. Essas substâncias, que variam especificamente, além dos fitormônios, podem ser constituídas de proteínas e/ou de carboidratos.



**Figura 2.** Múltiplos fatores regulam o florescimento em *Arabidopsis*. As setas vermelhas indicam a direção do transporte de FT. RE, retículo endoplasmático; SER, retículo.

### Frutificação:

A frutificação é um processo que inicia com a polinização e a posterior fertilização dos óvulos nos ovários, culminando com o desenvolvimento dessa estrutura e das sementes. Nas Angiospermas ocorre o fenômeno da *dupla-fecundação*, no qual um dos núcleos espermáticos ( $n$ ) do tubo polínico funde-se à *oosfera* ( $n$ ) (corresponde ao óvulo) formando o zigoto ( $2n$ ). O outro núcleo espermático ( $n$ ) funde-se com os núcleos polares ( $n + n$ ) do saco embrionário, formando o endosperma triplóide ( $3n$ ). O zigoto, através do processo de embriogênese, origina o embrião ( $2n$ ) e o endosperma fornece reservas para a sua sobrevivência. Ambos compõem as sementes, que após receber o tegumento, contribuem com a liberação de fitormônios para o desenvolvimento do ovário e,



consequentemente, do fruto. Concomitantemente ao desenvolvimento do óvulo (embriogênese e acúmulo de reservas) em semente, o ovário e, algumas vezes, outras porções da flor ou da inflorescência se desenvolvem originando o fruto. Nesse processo, as paredes do ovário (pericarpo) se espessam e se diferenciam em diferentes camadas (endocarpo, mesocarpo e exocarpo). Essas camadas são mais conspícuas em frutos carnosos do que em frutos secos.

As sementes são as principais fontes de fitormônios para o crescimento dos frutos. A remoção de sementes ou o seu abortamento resultam em atrofiamento do desenvolvimento de frutos, como é facilmente comprovado com a retirada dos aquênios (verdadeiros frutos) em morango, o que resulta em inibição no crescimento e desenvolvimento dos receptáculos intumescidos (“fruto do morango”). O desenvolvimento normal desses frutos é possível pela aspersão de AIA aos frutos nos quais os aquênios foram extraídos. Frutos de maçãs também atrofiam quando suas sementes sofrem aborto, o que pode ser observado pelo seu desenvolvimento morfológico anormal.

Em alguns casos, todavia, o desenvolvimento dos frutos ocorre em resposta à polinização ou até mesmo sem a polinização (não havendo em ambos os casos a fertilização). Os frutos originados nessas condições não apresentam sementes, sendo denominados frutos partenocárpicos (uva, banana, melancia, etc.). Os frutos partenocárpicos são de grande valor para agricultura. Por exemplo, a variedade mutante de uva *Thompson Seedless*, mais indicada para a produção de passas, possui elevado valor comercial. O tratamento das flores com fitormônios (auxinas ou giberelinas) causa inibição da fecundação e, consequentemente, da formação da semente. O ovário cresce e forma os frutos a partir da ação de hormônios produzidos pelo próprio ovário.

#### **Crescimento dos Frutos:**

O crescimento dos frutos é controlado por fatores genéticos, hormonais e ambientais. Sob o ponto de vista genético, cada fruto apresenta uma característica de tamanho, forma, sabor, cor, etc. Obviamente, os fatores hormonais e ambientais também interferem no fenótipo final do fruto. Os fitormônios têm ação direta sobre o desenvolvimento (força de dreno) dos frutos, uma vez que eles controlam os níveis de expressão dos genes. As auxinas, as giberelinas e as citocininas são fitormônios mais relacionados ao crescimento dos frutos. Eles são provenientes dos grãos de pólen e das sementes e também de porções do ovário (em frutos partenocárpicos). A sua aplicação exógena por pulverização também pode favorecer o crescimento de alguns frutos bem como também induzir partenocarpia

(auxinas e giberelinas). O ambiente tem ação direta sobre a fotossíntese e influencia diversos processos importantes para a planta como a nutrição mineral, a sua hidratação, e o fornecimento de temperaturas adequadas, dentre outros. Da fotossíntese depende diretamente a quantidade de carboidratos disponíveis. Na parte de nutrição mineral a deficiência de certos nutrientes pode afetar diretamente a produção de aminoácidos e, consequentemente, a síntese de proteínas, dentre outros processos relacionados à vida da planta e ao crescimento dos frutos.

Durante o início de desenvolvimento do fruto ocorrem a maior parte das divisões celulares. O aumento posterior de tamanho dos frutos é decorrente mais do alongamento dessas células, que foram produzidas por mitose, e das células previamente existentes no ovário. A capacidade de crescimento do fruto (tamanho final) bem como a quantidade de frutos produzidos pela planta dependem diretamente da capacidade fotossintética (competição frutos x área foliar), o que é uma consequência das relações fonte-dreno de assimilados.

O desbaste natural, realizado pela própria planta no início do desenvolvimento dos frutos, bem como o raleio de frutos (desbaste) conduzido por agricultores reduz a partição de assimilados, aumentando a força de dreno dos frutos remanescentes e, consequentemente, o seu tamanho final. Todavia, o número final de frutos produzidos será menor, devendo o valor final agregado pelo maior desenvolvimento do fruto compensar os gastos com o aumento nos custos de produção.

## 10. SENESCÊNCIA E ABSCISÃO:

A *senescência* representa o *estágio final do biociclo vegetal*. Todavia, esse processo pode ser parcial e/ou, também, decorrente de eventos casuais, que comprometem o metabolismo do indivíduo como um todo (ou algum órgão), provocando declínio e a sua morte. A *senescência* consiste no *conjunto de processos degradativos* que ocorrem nos *órgãos vegetais* sob o ponto de vista *bioquímico e físico*, levando os mesmos e/ou toda a planta à *morte*. A *senescência* é um processo diferente da necrose, embora ambas levem à morte. A necrose consiste na morte de tecidos resultante de danos físicos, venenos ou outra lesão externa. A *senescência*, ao contrário, é um *processo de desenvolvimento natural, dependente de energia e controlado pelo próprio programa genético da planta*. As folhas são geneticamente programadas para morrer, embora a sua *senescência* também possa ser iniciada por fatores ambientais. A *senescência recupera uma porção valiosa de recursos que as plantas investiram na formação das folhas*. Durante a *senescência*, enzimas hidrolíticas decompõem muitas proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos. Os açúcares, os nucleosídeos e os aminoácidos componentes são, então, transportados de volta para a planta via floema, podendo ser reutilizados em processos de síntese. Muitos minerais também são transportados para fora de órgãos *senescentes* e retornam para o corpo da planta.

A *senescência* ocorre em grande variedade de órgãos e em resposta a muitos fatores. Ela pode ser *monocárpica*, quando a *planta inteira, após a frutificação, entra em senescência e morre*, ou *policárpica*, quando a *senescência é parcial*, se restringindo a determinados órgãos. A *senescência monocárpica*, rápida e severa, é *típica de plantas anuais*, enquanto que a *senescência policárpica*, lenta e gradual, é *característica de espécies perenes*.

Embora possa parecer, a *senescência monocárpica* não é decorrente da exaustão da planta. Conforme a *“Teoria da Exaustão”*, a formação dos frutos causaria intensa mobilização de nutrientes e de fitormônios protetores, principalmente de citocininas, causando exaustão na planta e a consequente entrada em *senescência*. Essa possibilidade encontra sustentação em resultados de experimentos nos quais a retirada de flores e/ou frutos pode provocar o atraso do processo ou mesmo, em alguns casos, evitar a *senescência*. Segundo alguns autores, a exaustão é responsável pela deterioração da integridade estrutural, resultando no aumento da atividade de enzimas hidrolíticas e na perda da seletividade das membranas. Embora a *senescência* possa ser atrasada pela retirada

de flores em espécies monocárpicas, sob condições normais ela não pode ser evitada, sendo resultado da *“ligação”* de genes específicos durante os processos de floração e frutificação dessas plantas. A desvinculação da *senescência* da “teoria da exaustão” resultante de processos relacionados à reprodução é sustentada pela ocorrência desse fenômeno mesmo em órgãos vegetativos, independente da reprodução. Os principais tipos de *senescência* incluem a *senescência de caules aéreos* em plantas herbáceas, a *senescência foliar sazonal* em espécies decíduas, a *senescência foliar sequencial* em que as folhas morrem quando alcançam certa idade, a *senescência decorrente do amadurecimento de frutos carnosos e secos*, a *senescência de cotilédones de reserva e de órgãos florais* e a *senescência de tipos celulares especializados* como os tricomas, traqueídeos e elementos de vasos, dentre outras.

Por ser codificada geneticamente, a *senescência* segue um curso previsível de eventos celulares. Em nível celular, algumas organelas são destruídas enquanto outras permanecem ativas. Os cloroplastos são as primeiras organelas a se deteriorarem, com a destruição de componentes protéicos dos tilacóides e de enzimas do estroma. Ao contrário da deterioração rápida dos cloroplastos, os núcleos permanecem estrutural e funcionalmente intactos até estádios tardios da *senescência*. Os tecidos *senescentes* realizam processos catabólicos que exigem a síntese *de novo* de enzimas hidrolíticas como de proteases, nucleases, lipases e enzimas de degradação da clorofila. A síntese dessas enzimas envolve a ativação de genes específicos. Por isso, embora a maioria dos mRNAs das folhas reduzam durante a *senescência*, alguns RNAs têm a sua abundância aumentada.

Os genes cuja expressão decresce durante a *senescência* são denominados *genes de senescência regulados para baixo* (SDGs). Os SDGs incluem genes que *codificam proteínas relacionadas à fotossíntese*, o que causa redução na produção de energia e na atividade metabólica dos órgãos. A *senescência* também reduz a expressão de outros genes além dos relacionados à fotossíntese. Os genes cuja expressão é induzida durante a *senescência* são chamados *genes associados à senescência* (SAGs). Os SAGs incluem genes que *codificam enzimas hidrolíticas, tais como clorofilases, ribonucleases, proteases, lipases, ACC-sintetase e a enzima formadora de etileno (ACC-oxidase)*. As enzimas ACC-sintetase e ACC-oxidase estão relacionadas à biossíntese do etileno. Outros genes SAGs codificam enzimas responsáveis pela conversão do amônio em glutamina, possibilitando a reciclagem do nitrogênio dos tecidos *senescentes*.



A *morte celular programada* (MCP) é um tipo especializado de senescência em que células individuais ativam um programa de senescência intrínseco. Esse processo, análogo a **apoptose** das células animais, apresenta várias funções no desenvolvimento da planta, sendo, por exemplo, responsável pela diferenciação de elementos traqueais (xilema), durante a qual os núcleos e a cromatina são degradados e o citoplasma desaparece. A formação das folhas da costela-de-adão (Araceae) também está associada a esse tipo de senescência (MCP). Tais alterações resultam da ativação de genes que codificam nucleases e proteases. Outra importante função da MCP em plantas é a proteção contra o ataque de organismos fitopatogênicos. Quando um organismo fitopatogênico infecta uma planta, os sinais do patógeno fazem com que as células vegetais aumentem a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e acumulem concentrações elevadas de alguns compostos fenólicos, o que resulta na morte das células, isolando o patógeno em áreas restritas, impedindo que o mesmo se espalhe pelo vegetal. A deposição de *lignina* e de *calose* nos tecidos infectados também dificulta o espalhamento do patógeno. As células mortas formam uma ilha circular pequena denominada *lesão necrótica*. A morte celular programada que resulta na formação da *lesão necrótica* é denominada *resposta de hipersensibilidade*.

As plantas lançam mão de diferentes defesas bioquímicas contra o ataque de patógenos, uma vez que esses ataques podem ter como consequência a ativação do fenômeno de senescência. As *fitoalexinas*, *metabólitos secundários diversos com atividade antimicrobiana*, também podem acumular em torno do local da infecção, evitando o espalhamento do patógeno pela planta. Em outros casos, aminoácidos não-protéicos (inibidores de proteases) produzidos pelas plantas podem ser tóxicos para herbívoros. Alguns impedem a síntese protéica normal no corpo do herbívoro enquanto outros são erroneamente incorporados às proteínas produzidas pelo herbívoro, originando proteínas não funcionais. Enzimas hidrolíticas também podem ser sintetizadas, evitando a infecção causada por fungos e bactérias, incluindo glucanases e quitinases. Os *eliciadores* são moléculas específicas liberadas pelos patógenos e reconhecidas pelas plantas, incluindo as proteínas, peptídeos, esteróis e fragmentos de polissacarídeos provenientes da parede celular do patógeno, das membranas ou por processos de secreção.

Mais de 20 genes de resistência vegetal a patógenos (genes **R**) já foram isolados. Os genes **R** codificam *receptores protéicos* que reconhecem e se ligam aos eliciadores, alertando a planta sobre a presença do patógeno. A ativação dos genes **R** estimula a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{H}^+$  nas células e a saída de  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . O  $\text{Ca}^{2+}$  parece

ativar reações oxidativas que podem agir diretamente na defesa das plantas. Outros componentes nessa rota de transdução dos sinais do patógeno incluem o óxido nítrico, o ácido jasmônico e o ácido salicílico. As espécies vegetais são mais sensíveis ao ataque de determinadas raças de patógenos, sendo mais resistentes a outras. Aparentemente, a tolerância ou a sensibilidade ao patógeno estão relacionadas à velocidade de reconhecimento do eliciador pelo receptor da planta hospedeira (sintetizado pelos genes **R**). Quando uma planta sobrevive a um primeiro ataque de um patógeno, muitas vezes ela mostra aumento na resistência aos ataques subsequentes em qualquer outra região da planta, além de passar a apresentar proteção contra uma grande variedade de outros patógenos. Esse fenômeno, denominado *resistência sistêmica adquirida* (RSA), desenvolve-se após alguns dias da infecção inicial. A RSA parece resultar dos níveis aumentados de certos compostos de defesa, incluindo *quitinases e outras enzimas hidrolíticas*. Embora os mecanismos de ativação da RSA não sejam totalmente esclarecidos, a *participação do ácido salicílico* nessa resposta é bastante provável. Os níveis de *ácido salicílico* aumentam drasticamente na região de infecção após o ataque inicial, estabelecendo a RSA em outras partes da planta. Todavia, o *ácido salicílico* é uma molécula que apresenta baixa mobilidade na planta. Aparentemente, o *metil salicilato*, age como um sinal volátil indutor da RSA, podendo ser transmitido para outras partes da planta e, até mesmo, para plantas adjacentes. Assim, mesmo sem um sistema imunológico como o encontrado em animais, as plantas desenvolveram mecanismos elaborados para se protegerem contra microorganismos patogênicos. Algumas proteínas vegetais inibem a digestão em herbívoros. As leguminosas sintetizam inibidores da  $\alpha$ -amilase, dificultando a quebra do amido pelo metabolismo dos herbívoros. Outras espécies sintetizam *lectinas*, proteínas de defesa que se ligam aos carboidratos ou às glicoproteínas. Após a ingestão pelo herbívoro, as lectinas se ligam às células epiteliais do trato digestivo, interferindo na absorção de nutrientes. As *proteínas antidigestivas* mais conhecidas são as *inibidoras de proteases*. Encontradas nos legumes, nos tomates e em outros vegetais, elas bloqueiam a ação de enzimas proteolíticas nos herbívoros (tripsina e quimiotripsina), impedindo a digestão das proteínas. Os insetos que se alimentam de plantas que contém os inibidores de proteases apresentam taxas de crescimento e reprodução reduzidos, o que diminui a intensidade de danos nas plantas. Experimentos com plantas transgênicas capazes de acumular altos níveis de inibidores de proteases confirmaram que elas sofrem menos danos com o ataque de insetos herbívoros do que as plantas controle. Em tomate, a produção dos

inibidores de proteases é bem conhecida. As folhas lesadas produzem uma molécula denominada *pró-sistemin*a, que origina outra molécula denominada *sistemin*a, um polipeptídeo com ação hormonal. A *sistemin*a liberada no apoplasto das células danificadas é transferida para o floema, sendo transportada até células-alvo. Nessas células a *sistemin*a ativa a biossíntese do ácido jasmônico que, por sua vez, está relacionado à ativação dos genes que codificam para os inibidores de proteases. Outros sinais como o ABA, o ácido salicílico e fragmentos de pectina das paredes danificadas também parecem participar dessa cascata de sinalização. Todos esses processos contribuem para a não infecção da planta por patógenos ou para a redução da herbivoria dos seus tecidos, evitando a instalação de fatores que podem acelerar o processo de senescência.

Os principais fatores causadores de senescência são ambientais, genéticos, hormonais e os estresses em geral. Em espécies de clima temperado, a redução da temperatura e do fotoperíodo são os principais sinais do ambiente para a indução de senescência. Temperaturas elevadas, por sua vez, podem causar senescência em função da desnaturação de proteínas. O estresse hídrico também é outro fator causador de senescência em plantas não tolerantes à seca, o que ocorre em função do estímulo à produção do etileno. O alagamento e o frio (*chilling*) também podem provocar senescência em plantas não tolerantes pela ação do etileno.

#### **Influência dos Fitormônios sobre a Senescência:**

Todos os fitormônios clássicos e as demais substâncias controladoras do crescimento e desenvolvimento vegetal apresentam participação no controle do processo de senescência. As citocininas, as giberelinas e as auxinas atuam protegendo contra a senescência. As citocininas são consideradas importantes para os mecanismos que evitam a senescência. Os efeitos das citocininas são associados a sua capacidade em prevenir a senescência de folhas destacados (*Efeito Richmond & Lang*). Alguns experimentos envolvendo transformação genética demonstraram que as citocininas são reguladores naturais da senescência foliar, pois a *super-expressão* de um gene para citocinina (*ipt*) retarda bastante a senescência foliar de plantas de tabaco. As giberelinas são consideradas importantes na proteção contra a senescência, o que está associado ao seu papel no controle da juvenildade. A atuação das auxinas na proteção contra a senescência depende do momento metabólico em que a planta ou o órgão se encontram. Antes do início da senescência as auxinas atuam protegendo. Todavia, quando a senescência já teve início, as auxinas passam a aumentar ainda mais a senescência pela sua ação direta

sobre a síntese do etileno (conversão do SAM em ACC). O ácido abscísico (ABA) acelera intensamente a senescência tanto de segmentos foliares quanto de folhas ligadas a planta. Aparentemente, o ABA também atua indiretamente na senescência pela sua ação estimuladora da síntese do etileno. O ABA também parece contribuir para a ativação de enzimas hidrolíticas (proteases e ribonucleases). O etileno é o principal fitormônio envolvido na senescência. As aplicações de precursores e/ou de substâncias que aceleram a sua síntese estimulam a senescência, ao passo que a aplicação de citocininas pode reverter esse efeito. Todos os estudos fisiológicos sugerem que a senescência é regulada pelo balanço entre o *etileno* e as *citocininas*. Inibidores da síntese do etileno (AVG,  $\text{Co}^{2+}$ ) bem como da sua ação ( $\text{Ag}^{2+}$  e  $\text{CO}_2$ ) retardam a senescência foliar. O aumento na produção de etileno está associado à perda de clorofila e ao desaparecimento gradual da cor.

#### **Senescência Foliar:**

Dos processos de senescência, o mais bem estudado é o da senescência foliar. Nas espécies decíduas ocorre a senescência e queda simultânea da maioria das folhas. Nas espécies não-decíduas esse processo é gradativo e parcial. O período da senescência de uma folha é importante, pois a senescência possibilita a recuperação de uma porção valiosa dos recursos que as plantas investiram na sua formação. O fluxo desses recursos ocorre através do floema. Os principais fenômenos observados durante a senescência foliar são o declínio da atividade fotossintética (os cloroplastos são as primeiras organelas afetadas), a redução da respiração, a redução dos níveis de clorofila (amarelecimento) e de proteínas (principalmente dos cloroplastos), a redução na produção de carboidratos e de auxinas (AIA), a perda da integridade das membranas e o aumento da atividade de enzimas hidrolíticas (proteases, ribonucleases, invertases ácidas, fosfatases ácidas, clorofilases, esterases,  $\beta$ -1,3-glucan hidrolase).

#### **Abscisão:**

A *abscisão* refere-se à perda de uma parte do corpo ou de um órgão. Ela geralmente ocorre no final do processo de senescência, embora as plantas promovam abscisão de flores e de frutos jovens mesmo durante a reprodução. Nem todos os órgãos vegetais sofrem abscisão. Ao contrário do que ocorre em folhas de feijão, que sofrem o fenômeno da abscisão, em monocotiledôneas, como no milho, as folhas velhas não se soltam do caule, permanecendo presas a ele. Frutos de jaca



também não sofrem abscisão, murchando e apodrecendo presos à planta. De modo contrário, frutos maduros de manga sofrem abscisão pela ação dos ventos. A abscisão também ocorre em decorrência da competição entre os órgãos (flores e frutos, principalmente). O processo de abscisão encontra-se sob regulação hormonal, sendo, contudo, sensível às variações ambientais, ecológicas, fisiológicas e fitopatológicas. Nos casos de flores e de frutos, aqueles menores ou com problemas fitossanitários são sempre mais susceptíveis a esse processo.

A abscisão *ocorre* em camadas de células específicas *denominadas zonas ou camadas de abscisão*. Em algumas espécies, essas camadas podem ser anatomicamente distinguidas em qualquer estágio de desenvolvimento do vegetal. Nesses casos, as *zonas de abscisão* são formadas por camada de *células indiferenciadas, menores, ricas em protoplasma, com paredes finas, que se tornam morfológica e bioquimicamente diferentes durante o desenvolvimento do órgão*.

O processo de abscisão é mais bem compreendido em folhas. Um modelo para o controle hormonal da abscisão foi proposto por Morgan (1984). Ele apresenta três etapas distintas e sequenciais:

**- Etapa de manutenção foliar:**

Anteriormente à percepção de qualquer sinal (interno ou externo). As folhas encontram-se saudáveis e totalmente funcionais. Nesta etapa, as folhas são praticamente insensíveis aos sinais ambientais causadores de senescência e abscisão devido à produção do AIA, à alta taxa fotossintética e à elevada taxa metabólica.

**- Etapa de indução de “derramamento”:**

Um sinal para abscisão é percebido e transformado em mensagem, promovendo modificações na taxa de síntese dos hormônios foliares. Ocorre queda na síntese do AIA e no seu transporte para fora da folha, através do pecíolo, além de redução na taxa fotossintética. A folha passa a sofrer a ação do etileno.

**- Etapa de Queda (Derramamento):**

Eventos da abscisão são expressos através de processos bioquímicos, anatômicos e fisiológicos, culminando com a abscisão (queda) da folha.

Durante as duas últimas etapas ocorre o enfraquecimento das paredes celulares pela ação das celulasas, pectinases e poligalacturonases. Outras enzimas hidrolíticas atuam na degradação das células (ribonucleases, proteases, etc.). Posteriormente, ocorre a suberização e a impermeabilização das células da zona de abscisão, o que provoca a morte dessas células. Um vento moderado é suficiente para promover a queda da folha que permanece ligada à planta apenas pelos

tecidos de condução. Após a queda, na zona de abscisão ocorre uma cicatrização eficaz, o que evita qualquer perda de nutrientes e a entrada de ar e de fitopatógenos. A abscisão é essencialmente um processo aeróbio, necessitando um moderado conteúdo de fotoassimilados para ocorrer.

A capacidade do etileno em promover desfolha pode ser utilizada para fins comerciais. A desfolha pode ser induzida aplicando-se substâncias que induzem (Ethephon®, nitrato de amônio) a produção do etileno e, conseqüentemente, a queda de folhas sem, contudo, causar a queda de outros órgãos da planta. Por exemplo, o Ethephon é empregado na colheita do algodão, pois não atua no capulho (cuja abscisão é promovida pelo ABA), órgão que produz as fibras. O Ethephon atua especificamente sobre a abscisão das folhas.

Em contraste, a desrama natural é importante para eucaliptos, por facilitar os tratos culturais e melhorar a qualidade da madeira. Os retardantes de crescimento aceleram a abscisão devido a maior mobilização de reservas. A abscisão ocorre principalmente em órgãos vegetais mais fracos, que possuem menor atividade metabólica e menor tamanho. Órgãos em intenso crescimento não sofrem abscisão.

Em algumas situações a abscisão deve ser prevenida. Para se prevenir a abscisão podem-se realizar banhos de imersão em soluções contendo auxinas, geralmente o ANA e, em nitrato de prata, substância que impregna as células das zonas de abscisão, impedindo a ação do etileno. Os banhos de imersão são muito utilizados para flores de corte (rosas, gérbera, etc.) e para coníferas utilizadas como árvores de natal, visando evitar os efeitos do estresse hídrico sobre a produção do etileno. Frutos de maçãs são muito sensíveis à abscisão nos estádios finais da maturação. Pulverizações com auxinas evitam esse processo desde que aplicadas antes do início das quedas (depois de iniciada a aplicação de auxinas acelera a abscisão pela promoção na produção do etileno). Hastes e galhos mantidos sob sombreamento apresentam camada abscisão anormal, o que reforça a necessidade da manutenção da atividade metabólica durante o processo de abscisão.

## **Bibliografia:**

- Frank B. Salisbury e Cleon W. Ross 2013. **Fisiologia das plantas**. Tradução da 4ª edição norte-americana. Cengage. 792 p.
- Gilberto B. Kerbauy (2008) **Fisiologia vegetal**. 2ª. Edição. Guanabara Koogan. 452 p.
- Jessica Gurevitch; Samuel M. Scheiner; Gordon A. Fox (2009) **Ecologia vegetal**. 2ª Edição. Artmed. 592 p.
- Lincoln Taiz; Eduardo Zeiger; Ian M. Møller; Angus Murphy (2017) **Fisiologia e desenvolvimento vegetal** - 6ª Edição. Artmed. 888 p.
- Peter H. Raven; Ray F. Evert; Susan E. Eichhorn (2014) **Biologia Vegetal**. 8ª edição. Guanabara Koogan. 876 p.
- Ricardo A. Marengo, Nei Fernandes Lopes. (2009) **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações Hídricas, nutrição Mineral**. 3ª Edição. Editora UFV. 486 p.

F I S I O L O G I A

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

