

Sinal Fisiológico como Bioindicador de Estresse por Competição

MARCO A. OLIVA¹ e PAULO H. PEIXOTO²

Resumo - Uma revisão sobre sinais químicos que percebem, transmitem, modulam e viabilizam respostas das plantas às mudanças do ambiente consideradas como estresses é apresentada. Dá-se ênfase às respostas químicas e moleculares causadas pelo estresse hídrico, térmico e luminoso (fotoinibição). São analisados os possíveis mecanismos de atuação do Ca^{++} e K^+ e substâncias como fosfatidilinosítídeos, ABA, Ca-calmodulina, substâncias osmoprotetoras, dehidrina e ácido jasmônico. Palavras adicionais para indexação: sinal, estresses hídrico, térmico e luminoso.

Abstract - A review on the chemical signals that are perceived, transmitted, modulated and transduced into responses of the plants to stressing environmental changes is presented. Emphasis is given to molecular and chemical responses to water, temperature and light (photoinhibition) stresses. The probable modes of action of Ca^{++} and K^+ and specific substances such as phosphatidyl inositol, ABA, calmodulin, osmoprotectants, dihydrin and jasmonic acid are also described.

Additional index words : signal, water, temperature and light stresses

INTRODUÇÃO

Ao longo de toda sua evolução, as plantas competiram pelos fatores bióticos que viabilizam sua existência. Estes fatores atingem, freqüentemente, valores e dimensões fora de qualquer ótimo fisiológico ou ecológico transformando-se num estresse para as plantas. Larcher (36) considera que o estresse, para as plantas, não seria uma exceção mas uma situação normal. As plantas, então, reagem de forma específica em face aos diferentes estresses do ambiente. O próprio Larcher (36) define «...estresse pode ser descrito como um estado no qual o aumento da demanda sobre a planta conduz a uma desestabilização inicial, seguida de uma estabilização e uma eventual resistência. Se os limites da tolerância são ultrapassados e a capacidade adaptativa é sobretaxada, poderá resultar um dano permanente ou morte». Esta definição supõe algumas considerações, como: a) magnitude e tempo necessário para que o estresse se converta em «strain» nos termos de Levitt (37); b) sensibilidade das plantas às pequenas ou grandes variações dos fatores do meio. Relação estresse-síntese do sinal; c) tradução do sinal em resposta. Hierarquização temporal das respostas metabólicas (44); d) mecanismos de adaptação.

Um importante ramo da fisiologia ambiental, a fisiologia do estresse, trata de como as plantas respondem às condições do ambiente, suas respostas metabólicas, resistências e mecanismos de sobrevivência, seus efeitos sobre a produção e sua capacidade bioindicadora das alterações do meio de origem antropogênica. Plantas inseridas em comunidades agrícolas ou nativas estão sujeitas a diversos tipos de estresse bióticos ou abióticos, combinados ou não, produtos de um sistema competitivo entre elas. Dependendo da capacidade adaptativa da espécie ela poderá desaparecer ou dominar uma comunidade. Desta forma, os «sinais» químicos ou físicos que atuam como sensores das variações do meio tornam-se fatores importantes na sobrevivência das espécies e, conseqüentemente, na composição florística das comunidades.

Dependendo do tipo de estresse, de sua intensidade e sua duração, «sinais» específicos podem ser desenvolvidos a nível de células, tecidos, órgãos, indivíduo ou mesmo de comunidade, visando superar ou, pelo menos, reduzir os efeitos prejudiciais causados pelas condições adversas.

¹ Prof. Titular, Dep. Biol. Vegetal, Univ. Fed. de Viçosa, 36570000 Viçosa, Brasil.

² Prof. Assist. Dep. Botânica, Univ. Fed. Juiz de Fora, 36036330 Juiz de Fora, Brasil.

Esta revisão teve como objetivos estudar as relações existentes entre fatores estressantes bióticos e abióticos como água, luz e temperatura nas respostas dos indivíduos ou da comunidade ao estresse; caracterizar o «sinal» fisiológico ou bioquímico nas plantas estressadas; identificar os compostos, sintetizados a nível celular, considerados «sinais» de estresse; determinar a eventual função desses «sinais» na planta e na população e caracterizar a importância dos «sinais» nos mecanismos de adaptação das plantas ao estresse.

ESTRESSE HIDRICO E SINAIS QUIMICOS EM PLANTAS

Todas as espécies desenvolvem estruturas e mecanismos destinados a otimizar a exploração volumétrica do solo, escapando do déficit que limita o crescimento e desenvolvimento dos indivíduos. Isto significa que energia fotossintética e fotoassimilados estruturais são gastos na competição pela água disponível, como resposta a uma seqüência sinal-recepção-transmissão-resposta que a própria planta desenvolve.

O estresse hídrico provoca uma série de respostas que inicia-se com a percepção e transdução do estresse na(s) rota(s) sinalizadora(s), e manifesta-se através de mudanças a nível celular, fisiológico e de desenvolvimento. O conjunto de respostas observadas depende da severidade e duração do estresse, do genótipo da planta, do estágio de desenvolvimento e dos fatores ambientais oriundos do estresse (7).

As plantas podem «perceber» o ressecamento do solo ao redor das raízes e «comunicar» esta informação à parte aérea. Este «sinal», aparentemente, não se manifesta através da redução do fluxo de água das raízes para as folhas, uma vez que as respostas ao ressecamento do solo ocorrem na ausência de mudanças detectáveis na hidratação da parte aérea das plantas. Plantas fecham seus estômatos antes mesmo do S MBOLO 89 \f «Symbol» w foliar sofrer qualquer alteração detectável. A percepção do estresse envolve a transferência de alguma informação química das raízes para a parte aérea, e evidências recentes sugerem que os «sinais» radiculares não influenciam apenas o comportamento dos estômatos e, conseqüentemente, o ganho de carbono, mas também a iniciação e expansão foliar, além de outros processos de desenvolvimento (15).

Ápices radiculares parecem essenciais para as respostas das plantas aos estresses hídricos. Individualmente, podem mostrar relações hídricas totalmente diferentes da massa do sistema radicular em outras partes do perfil do solo (56). No processo, a desidratação das raízes em diversos pontos do sistema radicular contribui para o aumento da intensidade do sinal. A desidratação de raízes superficiais pode influenciar o metabolismo dos ápices radiculares e, dessa forma, produzir algum sinal químico como indicativo do ressecamento do solo. Isto pode acontecer quando o suprimento de água para a parte aérea não é um indicador sensível das mudanças no S MBOLO 89 \f «Symbol» w do solo. As respostas extremamente rápidas à desidratação de pequenas porções do sistema radicular sugerem que este tipo de sinalização química não é simplesmente um reflexo do ajustamento geral no funcionamento das raízes (15). Resultados de experimentos utilizando sistema radicular subdividido sugerem que a sinalização entre raízes e parte aérea, como efeito do ressecamento do solo, pode ser de natureza positiva, isto é, pelo aumento do suprimento de alguma substância fisiologicamente ativa (22). A superação da inibição do crescimento induzida pelo estresse hídrico atingida mediante a remoção da porção do sistema radicular parcialmente desidratado não deverá ser esperada se a natureza da mensagem for negativa ou acumulativa, isto é, devido a redução do suprimento de alguma substância normalmente transportada das raízes para a parte aérea, ou pelo acúmulo na parte aérea dessas substâncias (15).

A natureza da informação química proveniente das raízes para o sistema radicular é, ainda, uma incógnita mas algumas evidências sugerem a participação de fitoreguladores, íons, pH e outros sinais ainda desconhecidos. Alguns autores (22, 15) mostraram que citocinina diminui na parte aérea como conseqüência da deficiência hídrica no solo. O fornecimento de citocinina exógena reverte os efeitos no crescimento e no funcionamento estomático. Apesar de não ser o único sítio de síntese de citocininas nas plantas, o sistema radicular é, potencialmente, a maior fonte de citocininas para a parte aérea (30). Acredita-se que a biossíntese de citocinina nas raízes seja interrompida no momento em que a tensão hídrica nas folhas é aumentada, e o «sinal» para desencadear o processo de síntese pode ser a mudança do S MBOLO 89 \f «Symbol» w das raízes, que é transmitido a toda a planta (31).

Os efeitos do ABA no controle do estresse hídrico podem ser moderados pela presença de citocininas. O incremento da concentração de ABA modula a magnitude da amplificação requerida ao sinal hormonal, com a redução da biossíntese de citocininas, que normalmente é baixa em plantas sob estresse hídrico. O efeito antagonico entre o ABA e as citocininas no controle do mecanismo estomático é evidenciado em trabalhos

onde a permeabilidade a cátions em lipossomos é reduzida pela adição conjunta dos reguladores. Aparentemente, o ABA apresenta alta afinidade com fosfolípidos da membrana, formando canais que são rapidamente bloqueados na presença de cinetina (30).

Não existem evidências da participação de citocininas como «efetoras» do sistema Ca-calmodulina, e a caracterização desses reguladores de crescimento como o principal «sinal» radicular do ressecamento do solo é pouco consistente (30).

SINTESE E TRANSLOCAÇÃO DOS SINAIS QUÍMICOS

Os progressos na identificação precisa do «sinal» radicular ao ressecamento do solo são lentos em função dos conhecimentos limitados dos sítios de ligação e do modo de ação da maioria dos reguladores de crescimento, especialmente do ABA. Existem dificuldades na definição das concentrações efetivas nos sítios de ação dos reguladores de crescimento, bem como na identificação entre a sensibilidade real e a aparente. Apesar destas incertezas, as observações da literatura sugerem que um importante componente na cadeia de transdução dos sinais entre as perturbações ambientais e quaisquer modificações no crescimento e fisiologia das plantas é modulado por «sinais» hormonais (16).

Diversas substâncias químicas movem-se através do xilema para a parte aérea, potencialmente capazes de fornecer «informações» quanto a disponibilidade de água no solo. Contudo, a identidade desses sinais não é conhecida (16). A análise da composição da seiva xilemática de plantas não irrigadas mostra efeitos do ressecamento do solo na concentração de cátions e ânions, no pH, na capacidade de tamponamento, nos aminoácidos e nos fitoreguladores. Os níveis da maior parte desses componentes declinam com o ressecamento do solo. Contudo, uma exceção bastante evidente é a elevação da concentração de ABA que se verifica, substancialmente, mesmo sob reduções pouco expressivas no S MBOLO 89 *lf* «Symbol» *w* do solo (15).

Evidências bastante antigas mostram que a desidratação das células de plantas leva ao acúmulo de ABA (16). Além disso, a aplicação de ABA a plantas bem irrigadas simula os efeitos do ressecamento do solo na expressão gênica, na fisiologia, no crescimento e no desenvolvimento, tornando este regulador o mais forte candidato a «sinal» químico do estresse hídrico em vegetais (27). Vários trabalhos recentes mostram o relacionamento entre a condutância estomática, disponibilidade de água no solo e, ou, na concentração de ABA no xilema (16).

Entretanto, um exame crítico da hipótese do ABA sinalizando condições de déficit hídrico no solo deve mostrar que quantidades suficientemente grandes de ABA movem-se na corrente transpiratória como resposta ao estresse, modificando o metabolismo e a fisiologia da parte aérea. Experimentos com maçã, em sistema radicular subdividido, mostrou a ligação entre o sinal da raiz e a parte aérea. Foi comprovado que a reidratação remove o «disparo» da síntese do «sinal» radicular ao ressecamento do solo. Efeitos similares foram conseguidos com a excisão dos sítios de síntese do hormônio. Estes dados provam que sensores primários com capacidade de síntese, capazes de inibir o crescimento, são encontrados nas raízes (65, 22).

Concentrações de ABA na seiva xilemática refletem, seguramente, a redução da disponibilidade de água no perfil do solo, e o conteúdo de ABA nas folhas é indicador de menor sensibilidade aos efeitos do ressecamento do solo. Contudo, existem evidências de que, em algumas espécies, a atividade antitranspiratória da corrente xilemática não é atribuída ao ABA (16). A concentração de ABA na corrente xilemática é, geralmente, um indicador bastante sensível da disponibilidade de água no solo. Entretanto, alguns estudos mostram claramente que o início do fechamento dos estômatos ocorre antes de quaisquer mudanças na concentração de ABA no xilema serem detectadas (15). Outras substâncias, que não ABA, também poderiam participar desta sinalização. A remoção, por filtração na seiva xilemática, dos compostos de peso molecular elevado (não do ABA) em plantas submetidas a estresse hídrico removeu, em parte, a capacidade da seiva em induzir a produção de desidrinas (16).

Parte das dificuldades em assegurar se as modificações observadas na parte aérea das plantas submetidas a estresses hídricos são provenientes de algum sinal específico, decorre dos problemas na obtenção de amostras precisas e inalteradas da seiva xilemática (16).

A distribuição de ABA através dos tecidos das plantas é bastante influenciada pelo pH nos vários compartimentos. O ressecamento do solo pode promover a redistribuição do ABA como resultado do aumento do pH da seiva xilemática, e esta redistribuição pode explicar as rápidas e substanciais alterações no funcionamento da parte aérea (53).

Alterações na composição iônica de *Helianthus annuus*, como decréscimos na concentração de fosfato e Ca^{++} da seiva xilemática, não são suficientemente específicas para funcionar como um «sinal» da redução na disponibilidade de água no solo, sendo na verdade, uma consequência das relações raízes/parte aérea (21). Segundo Schurr et al. (53), o ABA preenche grande parte dos requisitos necessários a uma molécula sinalizadora da disponibilidade de água no solo. Entretanto, os autores não descartam a possibilidade de que as respostas das folhas sejam moduladas pelo estado nutricional das plantas, onde o conteúdo iônico da seiva xilemática poderia alterar a fisiologia dos estômatos aumentando sua sensibilidade em concentrações bastante reduzidas de ABA.

Aparentemente, a sensibilidade dos estômatos ao ABA é aumentada com a redução do S MBOLO 89 f «Symbol» w foliar. Isto sugere que os valores elevados de g_s verificados em plantas sob estresse hídrico no início da manhã, podem ser explicados pela baixa sensibilidade dos estômatos ao ABA. Quando o S MBOLO 89 f «Symbol» w da folha é reduzido nas horas mais quentes do dia, os estômatos têm a sua sensibilidade ao ABA aumentada (62). Estes resultados são coerentes com a hipótese de que a regulação estomática é influenciada não somente por «sinais» químicos como, também, por «sinais» hidráulicos. A importância relativa dos «sinais» químicos e hidráulicos no controle estomático pode refletir a dupla face de um único fenômeno, uma vez que relações bastante convincentes podem ser estabelecidas suportando a participação de ambos os tipos de controle. Tardieu e Davies (61) propõem, ainda, uma ligação dinâmica de curto prazo entre os estômatos e as perturbações ambientais, que torna os mesmos relativamente «tamponados» contra flutuações ambientais de curta duração. Em uma escala de tempo maior, o aumento gradual da concentração xilemática de ABA com o ressecamento do solo pode fornecer uma informação segura do funcionamento do sistema radicular e adequar os processos de desenvolvimento das plantas.

Testes do modelo interativo contra outro modelo envolvendo o controle puramente químico sugerem que, sem o aumento na sensibilidade dos estômatos em função do déficit hídrico, as concentrações de ABA geralmente encontradas em plantas estressadas não seriam efetivas no controle do comportamento dos estômatos. Outras predições importantes do modelo consideram que o aumento da capacidade do sistema radicular em sintetizar ABA apresenta pouco impacto na condutância estomática e na taxa de utilização da água pela planta e, ainda, que a resposta da condutância estomática à demanda evaporativa não corresponde necessariamente a algum mecanismo especial, podendo ser explicado por um modelo de controle estomático que utiliza mensagens radiculares do fluxo de água (16, 59, 23).

SINAL QUIMICO E MECANISMO ESTOMATICO

As células-guarda se fecham completamente em concentrações de ABA entre 10^{-9} e 10^{-10} M. Contudo, diversos tipos de «sinais» regulam a abertura estomática e estas interações são, freqüentemente, de características bastante complexas, modificando a sensibilidade dos estômatos visando a otimizar o ganho de CO_2 e a minimizar a perda de água (1).

A hiperpolarização direciona a entrada de K^+ e reduz o gradiente elétrico através da ativação de canais internos de K^+ . Influxo de Cl^- também ocorre, presumivelmente através do simporte Cl^-/H^+ ou do antiporte Cl^-/OH^- . Os íons são acumulados primariamente no vacúolo juntamente com o malato, que é sintetizado durante a abertura estomática (32). Como o conteúdo osmótico intracelular aumenta, as células-guarda absorvem água, balanceando o S MBOLO 89 f «Symbol» w com as células vizinhas, iniciando a sua turgescência (58).

O processo de fechamento dos estômatos não é simplesmente o inverso da abertura. A liberação de ânions e, ou, o acúmulo de Ca^{++} despolariza a plasmalema, tornando o potencial de membrana menos negativo. A despolarização gera a força dirigida que promove o efluxo do K^+ através dos canais de K^+ . Desse modo, os níveis de K^+ e malato são reduzidos e as células-guarda liberam água, promovendo o fechamento dos estômatos. Vários «sinais» controlam os movimentos estomáticos, dentre os quais a concentração de CO_2 , a umidade, os fitorreguladores, e a radiação vermelha e azul. A complexidade desses «sinais» às vezes é contraditória. Contudo, eles se integram resultando em uma única e coerente resposta das células-guarda. O ABA estimula o rápido efluxo de K^+ (e também de $^{86}\text{Rb}^+$) das células-guarda. O fechamento dos estômatos induzido por ABA envolve, às vezes, o acúmulo do Ca^{++} através dos canais de Ca^{++} não seletivos. Estes canais têm seus potenciais revertidos entre os potenciais de equilíbrio do Ca^{++} e do K^+ e, o aumento do Ca^{++} intracelular (Ca_i^{++}) salta de níveis bastante reduzidos, na faixa de 0,19 μM , para valores na faixa de 0,5 a 5,0 μM . A aplicação exógena de Ca^{++} inibe a abertura estomática pela inativação de canais que controlam o influxo de

K^+ , possivelmente através da ação de fosfatases ativadas pelo Ca^{++} e também pela despolarização de canais aniônicos. A fotólise do IP_3 «aprisionado» em células-guarda através de microinjeção, também estimula o fechamento dos estômatos e o aumento da Ca_i^{2+} , mesmo na presença de La^{+++} , um bloqueador dos canais de Ca^{++} . Aparentemente, o IP_3 estimula a liberação do Ca^{++} de compartimentos internos, provavelmente do vacúolo ou do retículo endoplasmático. Além disso, o Ca^{++} pode entrar no citossol através de outros canais existentes na plasmalema (32).

Em células-guarda de *Vicia faba*, ABA e IP_3 podem inibir os canais de K^+ e ativar uma corrente interna que provoca a despolarização requerida para o fechamento dos estômatos. Alternativamente, o processo pode ser decorrente do influxo de Ca^{++} . Contudo, a caracterização precisa do estímulo ao efluxo de Ca^{++} pelo ABA é limitada pela tecnologia atual, devendo-se considerar as possibilidades de que o ABA atue no fechamento dos estômatos através de duas rotas possíveis: Ca^{++} -dependente ou Ca^{++} -aceleradora e Ca^{++} -independente (40). Diversos experimentos têm sido utilizados para demonstrar o papel de ABA no fechamento dos estômatos. Trejo et al. (63) utilizaram epidermes isoladas de *C. communis* para verificar a influência deste tecido no comportamento estomático. Os autores concluíram que, o componente mais importante e, provavelmente, de maior variação na resposta estomática ao sinal do ABA é a efetividade com que as células do mesófilo controlam a concentração de ABA na epiderme. Este controle, aparentemente, é executado por enzimas envolvidas no metabolismo do ABA, que podem variar significativamente em função da hidratação da folha e de outras condições ambientais (63).

Os efeitos do ABA no comportamento estomático e no crescimento são, aparentemente, dependentes da distribuição do regulador entre os diversos compartimentos. O processo de redistribuição do ABA depende do gradiente de pH entre as células-guarda e o mesófilo (58, 63). O ABA é um ácido fraco ($pK = 4,7$) e, por esse motivo, pode se dissociar dependendo do pH do meio. Em meio básico o ABA se encontra na forma aniônica (ABA^-) e, em meio ácido, na forma molecular ou protonada (ABAH). O ABAH caminha livremente pelas membranas enquanto o ABA^- encontra-se aprisionado no compartimento mais alcalino. Taiz e Zeiger (58) propuseram um mecanismo de compartimentação do ABA no interior dos cloroplastos em plantas bem irrigadas. Pelo mecanismo, plantas mantidas sob condições de alta disponibilidade de água armazenam grande parte do ABA no estroma dos cloroplastos, uma vez que este compartimento encontra-se, proporcionalmente, mais alcalino que o apoplasto, em função do bombeamento de prótons para o lúmen do tilacóide durante a fotossíntese. Quando a disponibilidade de água é reduzida, a fotossíntese é inibida e a volta dos prótons para o estroma torna-o menos alcalino, fazendo com que o ABA passe para a forma ABAH, o que favorece seu transporte através das membranas até o apoplasto que, nessas condições, encontra-se proporcionalmente mais alcalino. No apoplasto, o ABA caminha até a superfície das células-guarda onde, aparentemente, existem receptores que irão desencadear o processo de fechamento dos estômatos. Este mecanismo pode explicar pelo menos em parte, o rápido fechamento dos estômatos antes mesmo da observação de qualquer aumento no conteúdo absoluto de ABA nas folhas ou de alterações nas relações hídricas da parte aérea (58).

O sítio de percepção do ABA nas células-guarda é, ainda, desconhecido. Vários mecanismos distintos são possíveis, incluindo receptores intracelulares, receptores localizados no lado extra-celular das células-guarda, ou ainda a combinação de ambos. Dois trabalhos recentes apresentam conclusões contrastantes em relação ao sítio de percepção do ABA nas células-guarda. Schwartz et al. (54), utilizando epidermes de *C. communis*, defendem a hipótese da participação efetiva de receptores intracelulares no mecanismo de funcionamento dos estômatos. Eles se baseiam no fato de que grande inibição da abertura de estômatos foi obtida após a microinjeção de ABA (pH 8,0) em células-guarda de epidermes destacadas mantidas em solução de imersão com pH 5,5 (pH do apoplasto). Nesta condição, todo o ABA fica aprisionado no compartimento mais alcalino, ou seja, no interior das células-guarda. Entretanto, o trabalho de (2), (1994) suporta a hipótese de que o sítio de recepção do ABA encontra-se, possivelmente, na face extra-celular da plasmalema das células-guarda, onde o regulador teria ação efetiva na regulação do mecanismo estomático. A identificação de receptores e componentes da rota de sinalização do ABA deverá, ainda, ser determinada.

ACUMULO DE SUBSTÂNCIAS OSMOPROTETORS EM RESPOSTA EM AO ESTRESSE HIDRICO

Um grande aumento no conteúdo de prolina livre é observado em tecidos de folhas de mesófitas durante as horas do dia em que ocorrem estresses hídricos de moderados a severos. Outros tipos de estresses, com por exemplo, o osmótico e de temperatura, também podem promover a sua biossíntese (43). O acúmulo de prolina é, geralmente, a principal modificação no «pool» de aminoácidos livres (25, 26). Evidências obtidas em plantas indicaram que um único gene é responsável pelo aumento na produção de prolina sob condições de estresse e, segundo Bartels e Nelson (4), isto representa uma potencialidade para trabalhos de engenharia genética.

Uma das principais conseqüências do acúmulo de prolina nos tecidos é o aumento da solubilidade de diversas proteínas. Isto ocorre, aparentemente, em função das interações entre as moléculas de prolina e os resíduos hidrofóbicos na superfície das proteínas, que provocam um aumento na área hidrofílica total da molécula, e conseqüentemente, na sua estabilidade. O acúmulo de prolina nos tecidos de plantas sob condições de estresse hídrico está relacionado também com a conservação de energia e de grupamentos amino, podendo ser, também, uma fonte de nitrogênio solúvel, além de ter participação no mecanismo anti-senescente (43).

Os meristemas apicais de raízes e da parte aérea respondem diferentemente aos estresses hídricos. Sharp et al. (56), mostraram que a região apical das raízes de milho são relativamente insensíveis ao estresse hídrico, o que foi evidenciado pelas diferenças no crescimento entre os ápices das raízes e regiões mais afastadas do ápice. A variação no comportamento entre as diferentes porções do sistema radicular são decorrentes da maior capacidade de ajustamento osmótico dos ápices radiculares em relação a porções mais velhas das raízes. Os principais componentes osmóticos acumulados nos ápices são hexoses, potássio e, principalmente, prolina (55, 64). Nos primeiros 2 mm das raízes, a contribuição da prolina para o ajustamento osmótico supera a de qualquer outra substância osmoticamente ativa, o que é reduzido com o distanciamento do ápice (64).

A função do ABA nas taxas de acúmulo de prolina estaria relacionada com o papel desse regulador no transporte e no controle dos níveis intracelulares de íons que, de alguma forma, seriam induzidos pelo acúmulo de prolina. Esta hipótese é suportada por informações sobre a regulação do ajustamento osmótico em outros sistemas, bem como em função do papel do ABA no funcionamento estomático (42).

Os efeitos osmoprotetores e crioprotetores dos QACs (compostos amônios quaternários) são interpretados em termos da compatibilidade desses solutos com a função e estrutura de macromoléculas. Aparentemente, a glicinabetaína pode alterar propriedades termodinâmicas das membranas, possivelmente pela interação direta com os fosfolipídeos (46).

Glicinabetaína está predominantemente localizada no citosol, ao contrário de íons inorgânicos que são armazenados no vacúolo. Este QAC protege diversas enzimas de plantas superiores da desnaturação por calor, podendo, também, atrasar a senescência de cloroplastos isolados e proteger o complexo de evolução do oxigênio no fotossistema II contra os efeitos inibitórios do NaCl. Este último efeito, aparentemente, não está relacionado com a varredura de radicais hidroxil (participação de prolina, manitol e sorbitol), cuja glicinabetaína é ineficiente. Glicinabetaína, por sua vez, tem a capacidade de aumentar o limite de temperatura para a inibição do fotossistema II (46).

Outros solutos compatíveis também são acumulados em tecidos de plantas sob estresses hídrico e salino, dentre os quais se destacam o manitol, o pinitol/ononitol e o sorbitol. Estes compostos, juntamente, com a prolina e glicinabetaína, contribuem para o aumento da tolerância à dessecação em tecidos de diversas plantas sob condições de estresse (4).

Dehidrinas são polipeptídeos encontrados em várias espécies de plantas sob condições de estresse hídrico. As dehidrinas fazem parte de um grupo de proteínas relacionadas com desidratação, referidas de maneira geral como proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant Proteins). Estudos utilizando diversos tipos de LEA e outras proteínas relacionadas com desidratação mostram que a maior parte delas, ou proteínas similares, acumula em células quando a disponibilidade de água no ambiente é reduzida, sob baixas temperaturas, aumento da pressão osmótica externa, perda de água em embriões ou aplicação de ABA (12). As dehidrinas de diversas espécies apresentam seqüências altamente conservadas com grande repetição de unidades de lisina. Diversos trabalhos sugerem que as dehidrinas se localizam principalmente no citoplasma. Sua ação primária está relacionada a alteração das interações termodinâmicas entre macromoléculas e a água, podendo

auxiliar também na varredura de radicais livres, na compartimentação iônica e na inibição da formação de cristais de gelo (12, 13).

ESTRESSE TERMICO

Temperaturas Infraótimas: Os mecanismos envolvidos na sinalização e na ativação das respostas à aclimação ao frio são pouco conhecidos. Entretanto, baixas temperaturas promovem o aumento do ABA e a aplicação exógena do regulador em plantas não aclimatadas induz resistência ao frio. A possibilidade deste regulador ser o «sinal» químico para as respostas metabólicas não pode ser descartada. Ryu e Li (51), verificaram a necessidade de síntese *de novo* de ABA durante a aclimação de plantas de *S. tuberosum*. Aparentemente, o ABA está envolvido na ativação de diversos genes que codificam a síntese de proteínas e enzimas, na produção de crioprotetores, no metabolismo de lipídeos e enzimas regulatórias de diversas rotas metabólicas (24). Uma função complementar do ABA sob condições de baixa temperatura, está relacionada ao aumento da condutividade hidráulica da água nas raízes, que é bastante reduzida durante o congelamento. O ABA facilita a rehidratação de plantas submetidas ao resfriamento (58).

A participação do Ca^{++} como transdutor dos «sinais» para a aclimação de plantas a baixas temperaturas também tem sido estudada. Foi verificado que a adição de produtos químicos que bloqueiam canais de Ca^{++} nas membranas, ou ainda, que inibem a atividade de certas cinases reduzem, significativamente, o desenvolvimento de tolerância ao frio, em células de *M. sativa*. Aparentemente, os sistema Ca^{++} -calmodulina também estão envolvidos no processo (41).

Os danos aos tecidos provocados por temperaturas infraótimas podem estar relacionados com a inativação de enzimas. Diversas enzimas respiratórias são inibidas durante o abaixamento da temperatura ou do congelamento. Duas enzimas-chave do ciclo glicolítico, a fosfofrutocinase e a piruvato cinase são inativadas ou têm suas atividades reduzidas sob baixas temperaturas. Em parte, os estresses hídrico e por baixas temperaturas são bastante semelhantes, principalmente no que diz respeito a desidratação do citoplasma e a necessidade de ajustamento osmótico. As baixas temperaturas provocam o acúmulo de compostos de peso molecular reduzido com atividade crioprotetora, dentre os quais incluem-se di- e trissacarídeos, poliols, sorbitol, compostos amônio quaternários, glicinabetaína, prolina e poliaminas. Todos estes compostos, semelhantemente aos apresentados na seção de estresse hídrico são solutos compatíveis, que auxiliam a manutenção da água de hidratação ao redor de proteínas e macromoléculas mantendo a sua estabilidade. Estas substâncias têm importante papel como estabilizadoras de membranas em função de suas relações com grupos polares e hidrofóbicos dos lipídeos, e de proteínas das membranas. Guy (24), considera sacarose, rafinose e sorbitol como crioprotetores primários presentes em plantas. A importância do acúmulo de açúcares na tolerância a baixas temperaturas é demonstrada pelo fato de que a habilidade de plantas tolerantes é perdida quando a biossíntese desses compostos é bloqueada.

O aumento de poliaminas tem sido associado a vários tipos de estresses, especialmente, com temperaturas infraótimas (35). O aumento da síntese dessas substâncias está relacionado, aparentemente, com a manutenção da termoestabilidade da membrana celular contra mudanças na fluidez e na ligação de solutos. Contudo, a participação das poliaminas em outros processos de desintoxicação metabólica não pode ser descartada. Uma das funções das poliaminas está relacionada ao mecanismo de desintoxicação celular contra o acúmulo de amônia, via síntese de glutamato e do ciclo da uréia (20). A síntese de espermidina e espermina apresenta como intermediário comum o S-adenosilmetionina (SAM), composto que também faz parte da biossíntese do etileno. Portanto, o acúmulo de poliaminas em tecidos estressados pode ser considerado de caráter adaptativo e anti-senescente, uma vez que as biossínteses desses compostos são processos competitivos (20).

A participação de proteínas anti-congelamento (AFPs) em processos de aclimação de plantas a baixas temperaturas foi recentemente relatada. Segundo Hon et al.(28), essas enzimas apresentam propriedades especiais que auxiliam na manutenção da integridade dos tecidos durante a redução da temperatura, principalmente por exercerem influência na morfologia dos cristais de gelo formados, e, também, por reduzirem a temperatura de congelamento das soluções. Além do acúmulo das AFPs, a reestruturação química e física das membranas é essencial. Plantas submetidas a aclimação a baixas temperaturas apresentam a atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo de lipídios alterada, principalmente da acetil-CoA-carboxilase (24), incrementando a síntese de ácidos graxos insaturados.

No processo de fotossíntese, temperaturas infraótimas afetam os sistemas coletores de luz dos fotossistemas

I e II que podem sofrer oligomerização em função da redução da fluidez das membranas, e dessa forma, reduzir a captação e transferência da energia luminosa aos centros de reação, reduzindo, conseqüentemente, a eficiência fotossintética (24).

Temperaturas Supraótimas. Temperaturas elevadas tipicamente acompanham condições de seca e são um importante fator de estresse. A faixa de temperatura máxima para a sobrevivência das plantas varia bastante em função da sua distribuição geográfica e das condições climáticas. A maioria das plantas morre quando expostas a temperaturas superiores a 50°C. Esta condição extrema, geralmente leva a desnaturação de proteínas e desorganização de membranas, com conseqüente perda de integridade celular e morte. O aumento da tolerância a temperaturas elevadas está associado à síntese de proteínas específicas, denominadas proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins - HSPs) (58).

Segundo Robertson et al. (48) os mecanismos de tolerância a temperaturas elevadas resultam da interação entre as proteínas de estresse (HSPs) e osmólitos. A síntese das HSPs, possivelmente, é promovida pelo ABA, uma vez que plantas submetidas a temperaturas elevadas e tratadas com este regulador têm sua termotolerância aumentada. Aparentemente, as proteínas induzidas pelo ABA sob condições de estresse por temperatura promovem interações não covalentes entre outras proteínas e lipídios, estruturas macromoleculares (ribossomos), ou membranas, prevenindo a inativação, desnaturação ou coagulação pelo calor (48).

Sob condições de estresse hídrico, um dos principais fenômenos observados é elevação da temperatura foliar em função da redução da transpiração, provocada pelo fechamento dos estômatos. Os efeitos deletérios das altas temperaturas em plantas superiores ocorrem primariamente no aparelho fotossintético, afetando principalmente as membranas dos tilacóides, particularmente o fotossistema II, que é, aparentemente, mais sensível que o PSI. Um dos principais efeitos das temperaturas elevadas verificados em plantas é o aumento da fotorrespiração. Com o aumento da temperatura, as solubilidades do CO₂ e do O₂ são reduzidas, mas mais intensamente do CO₂, aumentando dessa forma a atividade de oxigenase da RUBISCO, e, conseqüentemente, a fotorrespiração. Este fenômeno é bastante limitante, principalmente para plantas C₃ (58).

Algumas das HSPs podem ter importante papel no metabolismo normal das plantas. As chaperoninas (chaperonins) fazem parte de um grupo de proteínas com papel multifuncional em diversos organismos, participando da replicação do DNA, do dobramento e organização pós-tradução de proteínas e do transporte através das membranas. Temperaturas excessivas podem provocar a desnaturação de proteínas e aumentar a probabilidade da ocorrência de interações incorretas, gerando estruturas não funcionais (33). Algumas chaperoninas são homólogas a proteínas ligadas à RUBISCO nos cloroplastos, mas a sua participação no aumento da tolerância das plantas a temperaturas elevadas é duvidosa.

ESTRESSE POR RADIAÇÃO LUMINOSA (FOTOINIBIÇÃO)

Diversos tipos de estresses têm como resposta primária a inibição da fotossíntese. O estresse hídrico por exemplo, leva a redução da abertura estomática e, conseqüentemente, da transpiração, o que resulta em aumentos na temperatura foliar e na redução da eficiência fotossintética. Há evidências recentes de que a luz solar pode, também, ser estressante promovendo uma espécie de fotoinibição que, dependendo da intensidade, pode levar à fotoxidação e danificação do aparelho fotossintético. A fotoinibição acontece principalmente nas horas mais quentes do dia, sendo bastante intensificada pela interação com outros fatores ambientais adversos (38).

Segundo Barber e Andersson (3), a fotoinibição é comum em todos os organismos fotossintéticos que evoluem o oxigênio, sendo o alvo primário do fenômeno, o fotossistema II (PSII). O centro de reação do PSII é composto por diversos polipeptídeos, dentro os quais o D₁ e o D₂, que formam um heterodímero ligando todos os componentes requeridos para a separação de cargas e transporte de elétrons no fotossistema. Uma propriedade exclusiva do PSII, além da função de fotoxidação da água, é o rápido giro da proteína D₁ (52). Esta característica confere ao PSII uma alta instabilidade mas, em contrapartida, é o principal mecanismo de recuperação da eficiência fotossintética durante a fotoinibição, uma vez que a magnitude dos efeitos fotoinibitórios depende da eficiência dos sistemas protetores, bem como da capacidade de reparo e reversibilidade do dano (3).

A destruição do polipeptídeo D_1 pode ser decorrente de eventos que ocorrem no lado do doador de elétrons ou do aceptor. Sob condições de alta radiação, todo o Q_B passa para a forma completamente reduzida se desligando do polipeptídeo D_1 . Como Q_A fica impedida de doar seus elétrons para Q_B , esta aceita mais um elétron passando para o estado duplamente reduzido (Q_A^{2-}). Esta Q_A^{2-} abandona o polipeptídeo D_2 e, então, o centro de reação do PSII fica apenas com os componentes P_{680}^+ e feoftina $^-$ (Feo $^-$). Estes por sua vez, podem originar através de recombinação de cargas, espécies de oxigênio livres altamente reativas que têm a capacidade de destruir as moléculas de clorofila e degradar o polipeptídeo D_1 . O acúmulo de P_{680}^+ pode ser decorrente, também, da redução da velocidade do fluxo de elétrons do polipeptídeo Z para o P_{680} , que, da mesma forma, provoca a degradação do polipeptídeo D_1 (3).

A necessidade de ressíntese do polipeptídeo D_1 para a recuperação da fotoinibição pode ser demonstrada através da utilização de substâncias que inibem o processo sob condições de estresse luminoso. Schnettger et al. (52) utilizaram estreptomina, um inibidor da síntese de proteínas nos cloroplastos, e verificaram que a fotoinibição nessas condições é aumentada. Os resultados dos ensaios permitiram concluir, ainda, que o dano no aparelho fotossintético (fotoxidação) ocorre quando a velocidade de destruição do polipeptídeo D_1 excede a velocidade de ressíntese.

O fenômeno da fotoinibição pode ser facilmente detectado através de estudos de fluorescência, uma vez que este mecanismo é bastante eficiente na dissipação do excesso de energia luminosa. Durante processos de fotoinibição, a fluorescência dos cloroplastos é bastante elevada (52).

Para reduzir os efeitos prejudiciais da fotoinibição, as plantas lançam mão de diversos mecanismos de dissipação do excesso de energia. O ciclo das xantofilas é um desses mecanismos e consiste, basicamente, na conversão da diepoxi-violaxantina em zea-xantina-epoxi livre, via monoepoxi-anteroxantina quando a absorção de luz excede a utilização fotoquímica. A epoxidação de volta à violaxantina ocorre no escuro ou quando a luz absorvida não é inibitória (38).

O mecanismo de varredura enzimática das espécies de oxigênio livres formadas durante os eventos de fotoinibição é realizado nos cloroplastos pela ação de superóxidos dismutases (Cu-Zn-SOD) e pela ascorbato peroxidase (38). Estas enzimas atuam em conjunto, livrando os cloroplastos dos radicais superóxidos, formados durante a fotoxidação, e do H_2O_2 , produto final da reação de dismutação catalisada pela SOD.

Um dos principais mecanismos de proteção contra a absorção luminosa excessiva é a modificação da orientação das folhas em relação ao sol. Estes fenômeno é denominado heliotropismo, sendo comum em muitas espécies de plantas. No caso das plantas paraheliótropicas, os folíolos assumem determinadas posições durante as horas mais quentes do dia, evitando a incidência direta da luz. Os pulvinos têm participação fundamental nesse tipo de movimento em plantas (58).

Um dos fatores abióticos que mais influencia a fotossíntese é a temperatura. Os efeitos das temperaturas elevadas na fotossíntese se refletem principalmente na capacidade carboxilativa da RUBISCO, como discutido anteriormente (34). Temperaturas baixas também interferem no processo. A velocidade de ressíntese do polipeptídeo D_1 é bastante reduzida sob condições de resfriamento, podendo resultar em danos ao aparelho fotossintético (9). Além disso, a presença de lipídeos polinsaturados nas membranas dos tilacóides é essencial para a adaptação das plantas a baixas temperaturas (29).

A participação de poliaminas na estabilização de polipeptídeos do aparelho fotossintético e também da RUBISCO em plantas submetidas a estresse osmótico foi, recentemente, discutida por Besford et al. (5). Segundo estes autores as poliaminas têm a capacidade de estabilizar as membranas dos tilacóides, possivelmente por prevenirem a peroxidação dos lipídeos e, também, a síntese de etileno, através da inibição da enzima ACC-sintase.

FATORES ESTRESSANTES BIOTICOS

As plantas estão sujeitas a diversos tipos de estresses sob condições de campo. Associado aos estresses abióticos, vários tipos de estresses bióticos podem reduzir ainda mais a produtividade das culturas. Além disso, a infecção por patógenos desencadeia uma série de modificações no metabolismo das plantas, e estas alterações podem ser utilizadas como «sinais» na ativação de mecanismos de defesa por parte do indivíduo. Apesar das poucas evidências, algumas respostas a estresses bióticos podem ser utilizadas na elucidação dos possíveis mecanismos de sinalização das plantas a estresses abióticos.

Dentre as substâncias envolvidas nos processos de sinalização destacam-se o ácido jasmônico e o ácido salicílico, mas principalmente o primeiro.

O ácido jasmônico (JA) juntamente com o metil-jasmonato (MeJA) são substâncias produzidas a partir do ácido linoleico pela ação da lipoxigenase. A natureza volátil do MeJA e as características de ação do JA tornam estas substâncias potencialmente capazes de atuarem como moléculas sinalizadoras em plantas (57).

Uma das primeiras etapas do desenvolvimento do fenômeno de resistência sistêmica adquirida (SAR) é o reconhecimento do patógeno por parte da planta. Uma vez que as plantas reconhecem o patógeno, algum «sinal» é «disparado» promovendo a resistência em outros tecidos (49). Possivelmente, o processo resulta na produção de JA e no acúmulo de ácido salicílico (SA). O SA é produzido nas plantas pela rota do ácido *trans*-cinâmico, a mesma via de síntese da lignina e de outros compostos fenólicos. O SA, por sua vez, atua ativando os genes responsáveis pelo fenômeno da resistência (49). Farmer e Ryan (19) propuseram um modelo de sinalização promovido por JA em plantas submetidas a ferimentos (Figura 17). Pelo modelo, o ácido linoleico liberado em resposta aos sinais decorrentes dos ferimentos é convertido, através de uma série de reações, em jasmonato que, por sua vez, ativa a síntese de genes que codificam para um inibidor de proteinase. Oligouronídeos derivados da parede celular são os principais sinais para a síntese de algum inibidor de proteinase. A resposta específica das plantas aos oligouronídeos sugere a presença de algum sistema específico de recepção. O modelo, segundo os autores, pode ser um ponto de partida para futuras pesquisas visando desvendar o papel do JA na regulação das respostas das plantas ao ambiente.

A forma de transmissão dos «sinais» relativos a aquisição de SAR tem sido bastante estudada. Aparentemente, a percepção é proveniente do transporte de «sinais» hidráulicos (39).

ASPECTOS MOLECULARES DAS RESPOSTAS DAS PLANTAS AOS ESTRESSES DO AMBIENTE.

Recentemente, grandes esforços têm sido despendidos em pesquisas que objetivam o isolamento de genes induzidos durante os estresses, visando o estudo de seus produtos, bem como dos mecanismos que levam à sua indução. Mudanças na expressão gênica são fundamentais para as respostas observadas, uma vez que elas controlam a maior parte dos mecanismos de proteção a curto e longo prazos. A expressão de genes durante os estresses é uma forma de promoção da tolerância celular através da proteção de funções citoplasmáticas como, por exemplo, da atividade enzimática e da ultra-estrutura de organelas e membranas. A expressão de certos genes durante o estresse não garante que os seus produtos, seguramente, contribuam para a sobrevivência da planta, uma vez que a expressão pode ser resultante de injúrias ou danos metabólicos que ocorrem durante o estresse. Da mesma forma, outros genes podem ser induzidos e não alterarem a tolerância ao estresse, bem como vários estresses podem estar conectados em uma mesma ou similar rota de transdução (7).

Os mecanismos pelos quais as plantas detectam as modificações no ambiente externo e a transdução dessas modificações em respostas fisiológicas têm atraído grande atenção. Os avanços recentemente obtidos têm aumentado consideravelmente os conhecimentos relacionados com os processos de percepção dos sinais do ambiente em vegetais superiores. A percepção de estímulos externos (sinal primário/mensageiro) causa a mobilização ou a síntese de «mensageiros secundários» intercelulares, que podem ser metabólitos intracelulares ou íons. A interação desse mensageiro secundário com componentes da rota de transdução na célula, por exemplo enzimas, proteínas, etc, é responsável pelo início (disparo ou «trigger») da resposta fisiológica. Da mesma forma, o mensageiro secundário amplifica a informação contida no sinal do mensageiro primário, através da regulação direcionada do metabolismo celular ou através da geração de mensageiros adicionais que alteram o metabolismo (40).

Inúmeros trabalhos tentam elucidar os mecanismos de ação dos fitorreguladores tradicionais e dos reguladores de crescimento, bem como de outras moléculas sinalizadoras que iniciam a expressão gênica durante a manifestação dos estresses e do desenvolvimento normal das plantas. Entre as possíveis moléculas sinalizadoras incluem-se oligossacarídeos, polipeptídeos, pequenas moléculas tais como o ácido aracdônico, ácido abscísico, ácido jasmônico, Ca⁺⁺ e fosfatidilinosítídeos (50). Em animais, as respostas aos estímulos hormonais e ambientais são amplamente estudadas. Contudo, em plantas, os mecanismos de percepção e transdução dos sinais são pouco conhecidos (45).

O Ca⁺⁺ E OS MECANISMOS DE SINALIZAÇÃO

As células de plantas, animais e microrganismos contêm traços de fosfolipídios ácidos.

Uma vez que IP₃ (inositol trifosfato) tem a capacidade de liberar Ca⁺⁺ dos compartimentos de armazenamento intracelulares (18), e como já foi demonstrado que vários componentes do sistema dos fosfatidilinosítídeos encontrados em células animais estão presentes também em plantas, a possibilidade de que um sistema de transdução de sinais semelhante ao observado em animais na esteja funcionando também em células vegetais, não pode ser descartada (14).

A regulação da abertura estomática através do controle da turgescência das células-guarda é um sistema que permite estabelecer uma ligação direta entre o metabolismo dos fosfatidilinosítídeos e a sinalização celular. Existem evidências diretas da participação desses compostos no controle estomático. Foi verificado que após a micro-injeção de IP₃ em células-guarda de *Commelina communis*, a foto-ativação deste composto provocou um aumento bastante rápido na atividade citossólica do Ca⁺⁺, que se manteve por cerca de 5-10 minutos, promovendo o fechamento dos estômatos (14, 8). Aparentemente, em vegetais, a atividade dos fosfatidilinosítídeos é influenciada por diversos fatores, como luz, estresse osmótico e auxinas. Tanto os fosfatidilinosítídeos quanto a concentração interna de Ca⁺⁺ podem participar como mensageiros secundários, modulando a resposta dos estômatos às variações na disponibilidade de água (17, 14).

Semelhantemente ao observado em células-guarda, relaciona-se a possibilidade da participação dos fosfatidilinosítídeos na movimentação de pulvinos estimulados por luz, através da modulação da concentração interna do Ca⁺⁺. O Ca⁺⁺ regula o fenômeno através da modificação da atividade de canais de K⁺ na plasmalema, controlando a turgescência das células (14).

As evidências do papel do Ca⁺⁺ como mensageiro são inequívocas. A demonstração de modificações na concentração citossólica de Ca⁺⁺, de calmodulina e de proteínas ligadas à calmodulina, a identificação de diferentes canais de Ca⁺⁺ e a caracterização de proteínas cinases dependentes de Ca⁺⁺ (CDPKs), a nível bioquímico e molecular aumentam as evidências do papel dos fosfatidilinosítídeos no sistema de sinalização do Ca⁺⁺. Os dados são ainda insuficientes para entender os mecanismos pelos quais o Ca⁺⁺ regula as respostas fisiológicas em plantas (45, 10). Para evitar os possíveis efeitos tóxicos do Ca⁺⁺ no metabolismo, as plantas devem manter os níveis citossólicos e nucleares em uma magnitude de 3 a 4 vezes menor aos acumulados em outros compartimentos, como vacúolo, retículo endoplasmático e parede (17, 10). A interação entre receptor e estímulos ambientais leva a ativação de uma enzima associada (proteína G, fosfolipase, ou cinase) produzindo um mensageiro difusível (fosfatidilinosítídeos, ácidos graxos, H⁺) que ativa um canal de Ca⁺⁺ no tonoplasto. Este Ca⁺⁺ liga-se a uma proteína alvo que pode, então, alterar a atividade de uma proteína «efetora», responsável pela resposta final da célula (10).

O sistema Ca-calmodulina interage com diversas enzimas-chave e com outras proteínas estruturais denominadas proteínas ligadas à calmodulina (CaM-binding proteins, CBPs), que são extremamente importantes na regulação do metabolismo celular. Calmodulina (CaM) é uma proteína que não apresenta atividade por si própria (47), mas quando associada ao Ca⁺⁺, passa a apresentar grande habilidade no controle da atividade de muitas proteínas-alvo. Muito pouco se conhece em relação ao número, localização e identidade das CBP em plantas. Entretanto, a atividade de certas enzimas tais como NAD cinase, Ca⁺⁺-ATPase, NTPases nucleares, e proteínas cinases é reconhecidamente ativada pela CaM. A falta de informações sobre as CBPs e sua identificação tem limitado a elucidação dos mecanismos de transdução de sinais mediados por Ca⁺⁺ em plantas (45).

ÁCIDO ABSCISÍCO

Pela via dos carotenóides (11), a clivagem da 9'-*cis*-neoxantina resulta em um intermediário da biossíntese do ABA, a xantoxina. Esta por sua vez, é oxidada à ABA-aldeído pela enzima ABA-aldeído oxidase. Sob condições de estresse hídrico, Bray (7) considera a etapa de clivagem como sendo a regulatória da rota biossintética. A taxa de biossíntese de ABA é limitada pela produção de xantoxina, e não pela conversão da xantoxina em ABA. Transcrição e tradução são requeridas para a biossíntese de ABA durante os estresses, indicando síntese de enzimas induzidas pelo ABA ou que outras proteínas devam ser produzidas para a elevação dos níveis de ABA, antes mesmo dos genes requeridos para a sua síntese terem sido induzidos (7).

O ABA é, freqüentemente, referido como o «hormônio do estresse», tendo atuação nos mais diversos tipos de condições ambientais adversas, como por exemplo, nos estresses hídrico, de temperatura e osmótico (11). A maior parte das modificações na expressão gênica sob condições de estresse resulta de modificações na concentração de ABA, provavelmente, através de um envolvimento indireto na adaptação ao estresse, o que pode representar apenas algum ajustamento no metabolismo, promovendo a alteração do estado fisiológico da planta (11).

As funções da maioria dos genes induzidos pelo ABA e também sob condições de estresse são desconhecidas (6). Diversos produtos dos genes induzidos sob condições de estresse hídrico têm a função de proteger as estruturas celulares dos efeitos da perda de água. Estes genes, freqüentemente denominados *lea* (late embryogenesis abundant gene) foram inicialmente identificados durante as fases de maturação e perda de água nas sementes em desenvolvimento. Desde então, a expressão desses genes tem sido, também, observada em tecidos vegetativos como resultado de estresses hídricos, osmóticos e por baixas temperaturas. Segundo Bray (7), parte dos produtos dos genes *lea* é predominantemente hidrofílico, apresentando poucos resíduos de cisteína e triptofano. Estas proteínas são citoplasmáticas e, aparentemente, estão envolvidas na proteção de outras proteínas e de membranas, contra os danos provocados pela perda da água de solvatação das moléculas no citoplasma.

Um modelo do mecanismo de ação do ABA na regulação da expressão gênica durante estresses hídricos foi proposto por Bray (6). A redução da turgescência a valores próximos a zero (P0) resulta na transcrição e tradução de enzimas envolvidas na biossíntese de ABA. O aumento da concentração celular de ABA regula, então, o aumento da transcrição de diversos genes induzidos pelo ABA, resultando no acúmulo de mRNA específicos. Este, posteriormente é traduzido resultando no acúmulo de diversas proteínas envolvidas na tolerância à seca.

LITERATURA CITADA

1. Allan, A.C. and Trewavas, A.J. 1994. Abscisic acid and gibberellin perception: inside or out? *Plant Physiol.* 104:1107-1108.
2. Anderson, B.E.; Ward, J.M. and Schroeder, J.I. 1994. Evidence for an extracellular reception site for abscisic acid in *Commelina* guard cells. *Plant Physiol.* 104:1177-1183.
3. Barber, J. and Andersson, B. 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *TIBIS*, 17:61-66.
4. Bartels, D. and Nelson, D. 1994. Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant, Cell and Environm.* 17:659-667.
5. Besford, R.T.; Richardson, C.M.; Campos, J.L. and Tiburcio, A.F. 1993. Effect of polyamines on stabilization of molecular complexes in thylakoid membranes of osmotically stressed oat leaves. *Planta*, 189:201-206.
6. Bray, E.A. 1991. Regulation of gene expression by endogenous ABA during drought stress. p.81-98 in W.J Davies and H.G Jones, eds. *Abscisic acid; physiology and biochemistry*. BIOS Scientific Publishers, Lancaster.
7. Bray, E.A. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.* 103:1035-1040.
8. Brearley, A. and Hanke, D.E. 1992. 3- and 4-phosphorylated phosphatidylinositols in aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* L. *Biochem. J.* 283:255-260.
9. Bredenkamp, G.J. and Baker, N.R. 1994. Temperature-sensitivity of D1 protein metabolism in isolated *Zea mays* chloroplasts. *Plant, Cell and Environm.* 17:205-210.
10. Bush, D.S. 1993. Regulation of cytosolic calcium in plants. *Plant Physiol.* 103:7-13.
11. Chandler, P.M. and Robertson, M. 1994. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45:113-141.
12. Close, T.J.; Fenton, R.D.; Yang, A.; Asghar, R.; DeMason, D.A.; Crone, D.E.; Meyer, N.C. and Mooman, F. 1993. Dehydrin: the protein. In T.J. Close and E.A. Bray, eds. *Plant responses to cellular dehydration during environmental stress*. *Current Topics in Plant Physiology*, v. 10. pp.104-118. The American Society of Plant Physiologists, Rockville.

13. Close, T.J. and Lammers, P.J. 1993. An osmotic stress protein of cyanobacteria is immunologically related to plant dehydrins. *Plant Physiol.* 101:773-779.
14. Coté, G.G. and Crain, R.C. 1994. Biochemistry of phosphoinositides. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44:333-356.
15. Davies, W.J. and Zhang, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42:55-76.
16. Davies, W.J., Tardieu, F. and Trejo, C.L. 1994. How do chemical signals work in plants that grow in drying soil? *Plant Physiol.* 104:309-314.
17. Drobak, B.K. 1992. The plant phosphoinositide system. *Biochem. J.* 288:697-712.
18. Drobak, B.K. 1993. Plant phosphoinositides and intracellular signaling. *Plant Physiol.* 102:705-709.
19. Farmer, E.E. and Ryan, C.A. 1992. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *The Plant Cell*, 4:129-134.
20. Feng, J. and Barker, A.V. 1993. Polyamine concentration and ethylene evolution in tomato plants under nutritional stress. *HortScience*, 28:109-110.
21. Gollan, T.; Scurr, U. and Schulze, E.-D. 1992. Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in and pH of, the xylem sap. *Plant, Cell and Environm.* 15:551-559.
22. Gowing, D.J.G.; Davies, W.J and Jones, H.G. 1990. A positive root-sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *J. Exp. Bot.* 41:1535-1540.
23. Gowing, D.J.G.; Jones, H.G. and Davies, W.J. 1993. Xylem-transported abscisic acid: the relative importance of its mass and its concentration in the control of stomatal aperture. *Plant, Cell and Environ* 16:453-459.
24. Guy, C.L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41:187-223.
25. Hanson, A.D. and Hitz, W.D. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33:163-203.
26. Hanson, A.D.; Rathinasabapathi, B.; Rivoal, J. and Burnet, M. 1994. Osmoprotective compounds in the plumbaginaceae: a natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 91:306-310.
27. Hartung, W. and Davies, W.J. 1991. Drought-induced changes in physiology and ABA. Pages 63-79 in W.J. Davies and H.G. eds. Jones. *Abscisic acid; physiology and biochemistry*. BIOS Scientific Publishers Lancaster.
28. Hon, W-C., Griffith, M., Chong, P. and Yang, D.S.C. 1994. Extraction and isolation of antifreeze protein from winter rye (*Secale cereale* L.) leaves. *Plant Physiol.* 104:971-980.
29. Hugly, S. and Somerville, C. 1992. A role for membrane lipid polyunsaturation in chloroplast biogenesis at low temperature. *Plant Physiol.* 99:197-202.
30. Incoll, L.D. and Jewer, P.C. 1987. Cytokinins and the water relations of whole plants. Pages 85-97 in R. Horgan and B. Jeffcoat eds. *Cytokinins: plant hormones in search of a role*, Monograph 14, British Plant Growth Regulator Group, Bristol.
31. Itai, C. and Vaadia, Y. 1971. Cytokinin activity in water-stressed shoots. *Plant Physiol.*, 47:87-90.
32. Kearns, E.V. and Assmann, S.M. 1993. The guard cell-environment connection. *Plant Physiol.* 102:711-715.
33. Kovács, E.; Torok, Z.; Horváth, I. and Vigh, L. 1994. Heat stress induces association of the GroEL-analogous chaperonin with thylakoid membranes cyanobacterium, *Synechocystis* PCC 6803. *Plant Physiol. Biochem* 32:285-293.
34. Krapp, A.; Chaves, M.M.; David, M.M.; Rodrigues, M.L.; Pereira, J.S. and Stitt, M. 1994. Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in transgenic tobacco transformed with 'antisense' *rb* S.VII. impact on photosynthesis and growth in tobacco growing under extreme high irradiance and high temperature. *Plant, Cell and Environm.* 17:945-953.
35. Kushad, M.M. and Yelenosky, G. 1987. Evaluation of polyamine and proline levels during low temperature acclimation of citrus. *Plant Physiol.* 84:692-695.
36. Larcher, W. 1987. Stress bei Pflanzen. *Naturwissenschaften* 74:158-167.
37. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol.II. Academic Press, New York. 450 pp

38. Long, S.P.; Humphries, S. and Falkowski, P.G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45:633-662.
39. Malone, M.; Palumbo, L.; Boari, F.; Monteleone, M. and Jones, H.G. 1994. The relationship between wound-induced proteinase inhibitors and hydraulic signals in tomato seedlings. *Plant, Cell and Environm.* 17:81-87.
40. McAinsh, M.R.; Brownlee, C.; Sarsag, M.; Webb, A.A.R. and Hetherington, A.M. 1991. Involvement of second messengers in the action of ABA. in: W.J. Davies and H.G. Jones eds. *Abscisic acid; physiology and biochemistry*. pp. 137-152, BIOS Scientific Publishers, Lancaster.
41. Monroy, A.F.; Sarhan, F. and Dhindsa, R.S. 1993. Cold-induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression. *Plant Physiol.* 102:1227-1235.
42. Ober, E.S. and Sharp, R.E. 1994. Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. I. requirement for increased levels of abscisic acid. *Plant Physiol.* 105:981-987.
43. Paleg, L.G. and Aspinall, D. 1981 *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants*. Academic Press, Inc., Sydney. 492 pp.
44. Pahllich, E. 1993. Larcher's definition of plant stress: A valuable principle for metabolic adaptability research. *R. Bras. Fisiol. Veg.* 5:209-216.
45. Poovaiah, B.W. and Reddy, A.S.N. 1993. Calcium and signal transduction in plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 12:185-211.
46. Rhodes, D. and Hanson, A.D. 1994. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44:357-384.
47. Roberts, D.M. and Harmon, A.C. 1992 Calcium-modulated proteins: targets of intracellular calcium signals in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:375-414.
48. Robertson, A.J.; Ishikawa, M.; Gusta, L.V. and Mackenzie, S.L. 1994. Abscisic acid-induced heat tolerance in *Bromus inermis* Leyss cell-suspension cultures. *Plant Physiol.* 105:181-190.
49. Ryals, J.; Uknes, S. and Ward, E. 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiol.* 104:1109-1112.
50. Ryan, C.A. and Farmer, E.E. 1991. Oligosaccharide signals in plants: a current assessment. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 42:651-74.
51. Ryu, S.B. and Li, P.H. 1994. Potato cold hardiness development and abscisic acid. II. *De novo* synthesis of proteins is required for the increase in free abscisic acid during potato (*Solanum commersonii*) cold acclimation. *Physiol. Plantarum*, 90:21-26.
52. Schnettger, B.; Critchley, C.; Santore, U.J.; Graf, M. and Krause, G.H. 1994. Relationship between photoinhibition of photosynthesis, D₁ protein turnover and chloroplast structure: effects of protein synthesis inhibitors. *Plant, Cell and Environ.* 17:55-64.
53. Schurr, U.; Gollan, T. and Schulze, E.-D. 1992. Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. II. Stomatal sensitivity to abscisic acid imported from the xylem sap. *Plant, Cell and Environ.* 15:561-567.
54. Schwartz, A.; Wu, W.; Tucker, E.B. And Assmann, S.M. 1994. Inhibition of inward K⁺ channels and stomatal response by abscisic acid: an intracellular locus of phytohormone action. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:4019-4023.
55. Sharp, R.E., Hsiao, T.C. and Silk, W.K. 1990. Growth of maize primary root at low water potentials. II. role of growth and deposition of hexose and potassium in osmotic adjustment. *Plant Physiol.* 93:1337-1346.
56. Sharp, R.E., Silk, W.K. and Hsiao, T.C. 1988. Growth of the maize primary root at low water potentials. I. spatial distribution of expensive growth. *Plant Physiol.* 87:50-57.
57. Staswick, P.E. 1992. Jasmonate, genes, and fragrant signals. *Plant Physiol.* 99:804-807.
58. Taiz, L. and Zeiger, E. 1991. *Plant physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, 559 pp.
59. Tardieu, F. and Davies, W.J. 1992. Stomatal response to abscisic acid is a function of current plant water status. *Plant Physiol.* 98:540-545.
60. Tardieu, F.; Zhang, J. and Davies, W.J. 1992. What information is conveyed by an ABA signal from maize roots in drying field soil? *Plant, Cell and Environm.* 15:185-191.
61. Tardieu, F. and Davies, W.J. 1993. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant, Cell and Environm.* 16:341-349.

62. Tardieu, F.; Zhang, J. and Gowing, D.J.G. 1993. Stomatal control by both [ABA] in the xylem sap and leaf water status: a test of a model for droughted or ABA-fed field-grown maize. *Plant, Cell and Environm.* 16:413-420.
63. Trejo, C.L.; Davies, W.J. and Ruiz, L.M.P. 1993. Sensitivity of stomata to abscisic acid. An effect of the mesophyll. *Plant Physiol.*, 102:497-502.
64. Voetberg, G.S. and Sharp, R.E. 1991. Growth of maize primary root at low water potentials. III. role of increased proline deposition in osmotic adjustment. *Plant Physiol.* 96:1125-1130.
65. Zhang, J. and Davies, W.J. 1990. Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. *Plant, Cell and Environm.* 13:277-285.