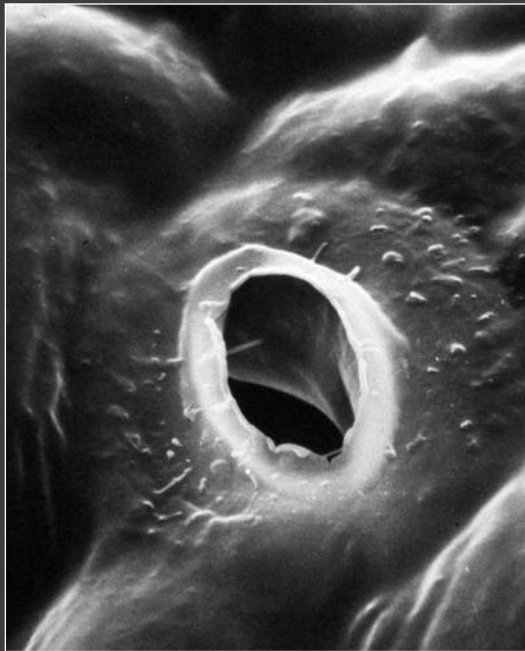


METABOLISMO DE CARBONO NA AGRICULTURA TROPICAL



PROF. CARLOS PIMENTEL

UFRRJ

**METABOLISMO
DE CARBONO NA
AGRICULTURA TROPICAL**

METABOLISMO DE CARBONO NA AGRICULTURA TROPICAL

CARLOS PIMENTEL

Eng. Agr.; D.E.A. e Dr. Sc.; Prof. Titular

Depto. de Fitotecnia - Instituto de Agronomia
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica - RJ - 23.851-970 - Brasil
e-mail: greenman@amcham.com.br



FICHA TÉCNICA

©Carlos Pimentel,1998

Direitos desta edição reservados à
EDUR - Editora Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Km 47 Antiga Rodovia Rio-São Paulo
Seropédica - RJ - CEP: 23.851-970
Tel: (021) 682-1210 R. 325 - Fax: (021) 682-1201
e-mail: edur@ufrjr.br

ISBN: 85-85720-16-6

Editoração, produção e capa: Dr. Alberto M. T. Magalhães

Foto da capa: Prof. D. Laffray
Estômato de *Brassica campestris*

Revisão de texto: Regina Lúcia Barreto Neves

A reprodução desta obra, no todo ou em parte, por qualquer meio, será permitida somente com a autorização, por escrito, dos editores.

FICHA CATALOGRÁFICA, ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFRRJ

581.133
P644m

Pimentel, Carlos, 1955 -
Metabolismo de carbono na agricultura tropical / Carlos Pimentel. -
Seropédica: Edur, 1998.
[9],150p.:il.

Bibliografia: p.141-159.

1. Carbono-Metabolismo. 2. Fisiologia vegetal.
3. Agricultura-trópicos. I. Título

CDD - 581.133

*Verde que te quiero verde.
Verde viento. Verdes ramas.
El barco sobre la mar
Y el caballo en la montaña.*

Versos de Federico García Lorca,
no poema *Romance sonámbulo*,
sempre lembrados por meu pai.

Dedico:
aos meus pais, Prof. Paulo Cezar de Almeida Pimentel e
Aniela Maria Niedenthal Pimentel, pela minha formação;
a minha esposa, Sandra Greenman, e as minhas filhas, Aniela e Joana,
sobretudo pela paciência durante a elaboração deste livro.

Agradeço:
aos amigos Dr. Alberto M. T. Magalhães, pela editoração do livro,
Dr. Manlio Silvestre Fernandes, Dr. Eduardo Caruso Machado
e Dra. Norma Gouveia Rumjanek, pela revisão do conteúdo;
aos Prof. P. Louguet e Prof. D. Laffray, pela gentileza em ceder as fotos;
e à Virgínia Tenório Carvalho, pelo auxílio na digitação.

PREFÁCIO

A fisiologia vegetal é uma área recente da ciência, nascida da botânica, com alguns poucos trabalhos realizados nos séculos 17 e 18, tendo, porém, um maior desenvolvimento neste século, sobretudo a partir das décadas de 50 e 60. Até hoje, grande parte do conhecimento usado em fisiologia vegetal é oriundo da fisiologia humana, mais antiga e com maiores recursos para a pesquisa. No Brasil, essa ciência é mais recente ainda, com maior formação de fisiologistas no exterior na década de 70, e conseqüente consolidação dos cursos de pós-graduação em fisiologia vegetal, na década de 80.

Essa ciência se desenvolveu na Europa e depois nos Estados Unidos, tendo uma preocupação evidente com o comportamento vegetal nas condições ambientais daquelas regiões de clima temperado, bem distintas das nossas condições tropicais. Em clima temperado, os maiores problemas ambientais são as baixas intensidades luminosas durante a maior parte do ano, o frio, e agora a poluição ambiental. Nessas regiões não existem grandes problemas com deficiência de nutrientes, uma vez que, atualmente, um de seus maiores problemas ambientais é a contaminação do lençol freático com excesso de NO_3^- , pesticidas e herbicidas, além da poluição do ar, com a chuva ácida.

Para nós, em clima tropical, a radiação luminosa não é limitante (só por excesso, causando fotoinibição), as temperaturas são altas, a poluição do ar ainda não é um fator muito sério e lidamos freqüentemente com deficiência de nutrientes, ao invés de excesso. Os estresses ambientais ocorridos aqui são bastante diferentes daqueles de países temperados, portanto, a fisiologia vegetal para a produção agrícola em clima tropical tem outras preocupações.

Por isso, é importante termos uma bibliografia específica para as condições tropicais de países onde a fisiologia vegetal e sua formação são ainda bastante novas possuindo, assim, poucos textos especializados.

O livro texto brasileiro mais utilizado para as disciplinas de fisiologia vegetal são os 2 volumes coordenados pelo prof. M. G. FERRI, editado pela primeira vez em 1979 e de grande importância para a lecionação da fisiologia vegetal. Contudo, a fisiologia vegetal voltada para o ambiente tropical fez grandes avanços até o momento (agora mais ainda com a biologia molecular), sofrendo modificações de muitos de seus conceitos das décadas de 70 e 80. Atualmente faz-se necessária a publicação de textos com referências mais recentes para as diferentes disciplinas que lidam com a fisiologia vegetal, no Brasil.

Para a graduação em Engenharia Agrônoma na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, o Departamento de Fitotecnia do Instituto de Agronomia, achando importante o aprendizado de fisiologia vegetal aplicada para a formação de nosso profissional, criou, além da disciplina de fisiologia vegetal (que é a fisiologia básica), uma segunda disciplina chamada fisiologia

da produção, mais aplicada à agricultura. Na pós-graduação, a formação em fisiologia aplicada à produção vegetal é ministrada nas disciplinas “fisiologia da produção e crescimento das culturas”, “ecofisiologia das plantas cultivadas” e “nutrição mineral de plantas”.

Essa revisão é uma atualização do conteúdo de parte do programa da disciplina de “fisiologia da produção e crescimento das culturas”, para 1998, servindo de referência para as outras disciplinas de graduação e pós-graduação, na área de ecofisiologia de plantas cultivadas (nova sub-área de pesquisa do CNPq, dentro da área de agronomia). O trabalho se concentra no metabolismo de carbono voltado para a agricultura tropical. Além dessas disciplinas, outras disciplinas como as de fitotecnia, poderão se beneficiar dessa bibliografia, que não pretende ser completa sobre o assunto, mas contribuir com o ensino da fisiologia vegetal no Brasil, sobretudo para o profissional que lida com a agricultura.

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
Capítulo 1.	ASSIMILAÇÃO DE CARBONO	15
1.A.	As reações luminosas	16
1.B.	As reações escuras	23
1.B.1.	O ciclo de Benson-Calvin de redução do carbono (via fotossintética C_3)	24
1.B.2.	Metabolismo C_2 do glicolato-glicerato (fotorrespiração)	26
1.B.2.1.	Possíveis funções da fotorrespiração	28
1.B.3.	A via fotossintética C_4 (Via de Kortschack, Hatch-Slack)	29
1.B.3.1.	Plantas C_4	30
1.B.3.2.	Os três subgrupos de plantas C_4 - bioquímica, fotoquímica e taxonomia	33
1.B.3.3.	Características de plantas C_4	34
1.B.3.4.	Plantas intermediárias C_3 - C_4	36
1.B.3.5.	Plantas com o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM)	36
1.C.	Ecofisiologia de plantas C_3 , C_4 e CAM	38
1.C.1.	Características das enzimas ribulose,1-5, bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco) e fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-case)	40
1.C.2.	Respostas das plantas C_3 , C_4 e CAM aos fatores ambientais	42
1.C.3.	Adaptação de plantas C_3 , C_4 e CAM aos ambientes tropicais	47
Capítulo 2.	RELAÇÕES FONTE/DRENO	51
2.A.	Partição de carbono na planta (aspectos agrônômicos)	54
2.A.1.	Características morfo-fisiológicas da fonte	55
2.A.1.1.	Velocidade de desenvolvimento da área foliar (específica) do dossel ou da área foliar fotossinteticamente efetiva (tamanho da fonte)	55
2.A.1.2.	Idade da folha, duração da área foliar (duração da fonte) e a senescência	56

2.A.2.	Características morfo-fisiológicas do dreno	60
2.A.2.1.	Tamanho e número de drenos	60
2.A.2.2.	Transporte de carbono (intensidade do dreno) e período de enchimento do dreno (duração do dreno)	62
2.A.3.	Relações fonte/dreno nos estádios de desenvolvimento	64
2.A.4.	Comunicação e interação entre a fonte e o dreno	66
2.A.4.1.	Movimento e possíveis ações de fitormônios na fonte e no dreno	68
2.A.4.2.	Resposta intracelular à mensagem externa	75
2.A.4.3.	Uso de plantas transgênicas para a eficiência do balanço de carbono	90
2.B.	Alocação de carbono na planta (aspectos bioquímicos)	94
2.B.1.	Metabolismo de carboidratos no cloroplasto e transporte para o citoplasma	94
2.B.2.	Síntese de sacarose no citoplasma	95
2.B.3.	Carregamento de sacarose no floema	96
2.B.4.	Transporte de carboidratos no floema	97
2.B.5.	Descarregamento de sacarose do floema para o dreno	97
2.B.6.	Metabolismo de carboidratos no dreno	99
Capítulo 3.	BALANÇO DE CARBONO E OS FATORES AMBIENTAIS	103
3.A.	Falta de água e o metabolismo de carbono	106
3.A.1.	Eficiência no uso de água	110
3.A.2.	Adaptação à seca e zoneamento agrícola	114
3.A.3.	Uso de irrigação e salinização do solo	116
3.B.	Temperaturas altas e o metabolismo de carbono	120
3.B.1.	Efeitos de temperaturas altas no balanço de carbono	122
3.B.2.	Efeitos da temperatura no desenvolvimento vegetal	126
3.C.	Eficiência no uso de nutrientes e o metabolismo de carbono	127
3.C.1.	Interação entre o metabolismo de N e de C	132
3.C.1.1.	NO ₃ ⁻ como fonte de N	133
3.C.1.2.	NH ₄ ⁺ como fonte de N	136
3.C.1.3.	Fixação biológica de N ₂ , em leguminosas	137
	REFERÊNCIAS	141

INTRODUÇÃO

A agricultura em zona tropical, principalmente a de baixa tecnologia (sem irrigação e pouco adubada), tem de melhorar seus rendimentos, pois a população mundial prevista para o ano 2025 é de 8 bilhões, e mais de 90% deste crescimento ocorre em países do terceiro mundo, nos trópicos. Todos os modelos sugeridos prevêm uma séria falta de alimentos, especialmente em países tropicais. Essa falta de alimentos será exacerbada em países tropicais do 3º mundo devido à reduzida produtividade das culturas, aquecimento global, e degradação de solos, resultante da remoção da vegetação tropical. A necessidade premente de aumento da produtividade agrícola de culturas tropicais (mais vale alimentar do que remediar), deve basear-se na compreensão das interações no ambiente da cultura, isto é, da interação entre o sistema de cultivo, em que entram o componente da cultura, a atmosfera, o solo, e fatores bióticos (pragas e doenças) (NORMAN et al., 1995).

Nesse contexto, o Brasil representa um potencial para a produção de alimentos no mundo, ainda pouco explorado. Os cerrados brasileiros, que ocupam cerca de 22% do território nacional, com 183 milhões de hectares, ainda são pouco utilizados para a produção agrícola. Em zona tropical, com área relativamente plana, permitindo a mecanização, com período seco e de chuvas bem determinado, o cerrado permitirá uma grande produção de alimentos (LUCCHESI, 1987). Segundo GOEDERT et al. (1980), a região dos cerrados permite duplicar a produção brasileira de alimentos, produzindo alimentos para mais de 200 milhões de pessoas.

Portanto, a compreensão dos aspectos fisiológicos da produção de matéria seca pela cultura, associada ao efeito do meio ambiente no qual a cultura está sendo realizada, permitirá avanços e ganhos em produtividade agrícola. Nas duas últimas décadas, um significativo aumento do rendimento de culturas como o milho, arroz e trigo, foi conseguido através da manipulação genética da arquitetura da planta (FAGERIA, 1992).

A produtividade de um dossel de plantas com índice de área foliar, IAF, próximo do ótimo (IAF é uma expressão da densidade populacional, dado pela área foliar existente em relação à superfície de solo ocupada [MAGALHÃES, 1979]) é dependente de:

1) para a fonte: taxa fotossintética por unidade de área; área foliar específica, fotossinteticamente efetiva (tamanho da fonte); e manutenção da área fotossintética durante o ciclo da planta (duração da fonte).

2) para o dreno: número e tamanho de drenos para os fotoassimilados (força do dreno); translocação de fotoassimilados (intensidade do dreno); e tempo de enchimento do dreno (duração do dreno).

3) sensibilidade aos fatores ambientais tropicais: tolerância à seca e às altas temperaturas; eficiência de uso de nutrientes disponíveis no solo; etc...

Essa revisão pretende discorrer sobre estes 3 tópicos, relacionando-os com a produtividade agrícola em ambiente tropical.

Capítulo 1

ASSIMILAÇÃO DE CARBONO

O processo fotossintético, que ocorre somente em vegetais (autotróficos), é essencial para a sobrevivência dos animais considerados heterotróficos, pois não sintetizam estes compostos energéticos (“all flesh is grass”). A vida, tal qual se conhece, depende deste processo primário, que pode ser dividido em duas fases ou reações: 1) **reações luminosas**, para a captação de energia luminosa e transformação dessa em energia química (ATP), para as reações endergônicas de formação de açúcares; e em poder redutor (NADPH), para a redução do CO_2 atmosférico a carboidrato, mas também para outras reações, que consomem ATP e NADPH; e 2) **reações ditas escuras**, que são as reações enzimáticas de incorporação do CO_2 atmosférico em compostos orgânicos, utilizando o ATP e o NADPH produzidos nas reações luminosas. Essas reações escuras é que são distintas para as vias de assimilação C_3 e C_4 .

As reações luminosas ocorrem dentro dos cloroplastos, em vesículas chamadas grana, formadas pelas membranas dos tilacóides, onde estão os componentes dos fotossistemas. Existem também cloroplastos com tilacóides agranares, portanto sem os fotossistemas, que não fazem a conversão de energia luminosa em química. Este tipo de cloroplasto agranar ocorre nas células da bainha perivascular de um dos tipos de plantas C_4 . Nesse caso, o ATP e o NADPH necessários para a redução do CO_2 a carboidrato, nas células da bainha perivascular dessas plantas, são oriundos da interconversão de trioses-P e de ácidos orgânicos produzidos nas células do mesófilo e que migram, via plasmodesmata, para essas células (Fig. 1).

Certas plantas C_4 da subfamília *Panicoideae*, como cana de açúcar, milho, sorgo e outras, exibem os dois tipos de cloroplastos (Fotos 1A e B), segundo EDWARD & HUBER (1981) e HALL & RAO (1994). Apesar dos processos ocorrerem nas células do mesófilo, para o metabolismo de N e nas células da bainha perivascular para o metabolismo de C, ambos os processos necessitam de ATP e NADPH que, nessas plantas C_4 do tipo NADP-ME (que é o tipo de todas as plantas C_4 cultivadas), são produzidos somente nas células do mesófilo, competindo, os dois processos, pela energia química produzida no mesófilo.

Essas reações luminosas ocorrem independentemente das ditas escuras. Por exemplo, quando a disponibilidade de água na planta decresce, há o fechamento dos estômatos para evitar perdas de água, mas isso diminui também a penetração do CO_2 atmosférico para as reações escuras. Contudo, a

folha continua a ser iluminada e os fotossistemas produzindo ATP e NADPH que ficarão em excesso, e, associado ao efeito oxidativo do O_2 , em maior concentração que o CO_2 , irão causar danos a estes fotossistemas. Tal efeito é chamado fotoinibição (HALL & RAO, 1994).

Todas as outras reações de redução, que ocorrem em tecidos fotossinteticamente ativos, como as de NO_3^- a NH_4^+ , irão competir com a redução do CO_2 atmosférico a carboidrato, pelo ATP e NADPH produzidos nos cloroplastos.

Para as reações escuras, devemos salientar que a única via metabólica de síntese de açúcares é a via C_3 , mesmo em plantas C_4 . A via C_4 , como será visto, serve para aumentar a eficiência da via C_3 (HATCH, 1976; LAWLOR, 1993).

1.A. AS REAÇÕES LUMINOSAS

Os pigmentos fotossintéticos absorvem radiação luminosa que promove, em átomos destes pigmentos, a passagem de um elétron de um orbital basal (o último dos orbitais do átomo, preenchido com elétrons) para um orbital mais afastado do núcleo e portanto mais energético, dito orbital de excitação (acima do orbital basal e sem elétrons). Esse fenômeno de excitação de elétrons nos átomos dos pigmentos é de curta duração, sendo que a quantidade de energia absorvida tem de equivaler à diferença de energia entre os orbitais basal e excitado. Os comprimentos de onda capazes de excitar estes elétrons variam dentro do espectro de luz visível, segundo os pigmentos: a clorofila **a** absorve radiação luminosa a 420 e 660nm; a clorofila **b** a 435 e 625nm; a clorofila **c** a 445 e 625nm; a clorofila **d** a 450 e 690nm; os **carotenóides** de 420 até 480nm, e as **ficobilinas** de 490 a 650nm. A luz azul, com menor comprimento de onda e maior energia, é porém menos eficiente fotossinteticamente. Isto porque essa energia absorvida leva o elétron para um segundo orbital excitado, ainda mais externo, mas que retorna depois ao primeiro orbital excitado, liberando somente calor, e portanto, sem aproveitamento de toda energia fornecida pelo fluxo de fótons neste comprimento de onda. Já a luz vermelha, com maior comprimento de onda, e portanto, menos energética, leva o elétron somente ao primeiro orbital excitado (RICHTER, 1993).

Esse orbital excitado é instável, pois o elétron é mantido nele pela energia absorvida. Quando o átomo volta ao equilíbrio, este elétron retorna ao seu orbital basal (que é determinado pelo número de elétrons daquele átomo). Com essa de-excitação, para que o elétron volte a posição de equilíbrio no orbital basal, há a liberação daquela diferença de energia entre os orbitais. Essa

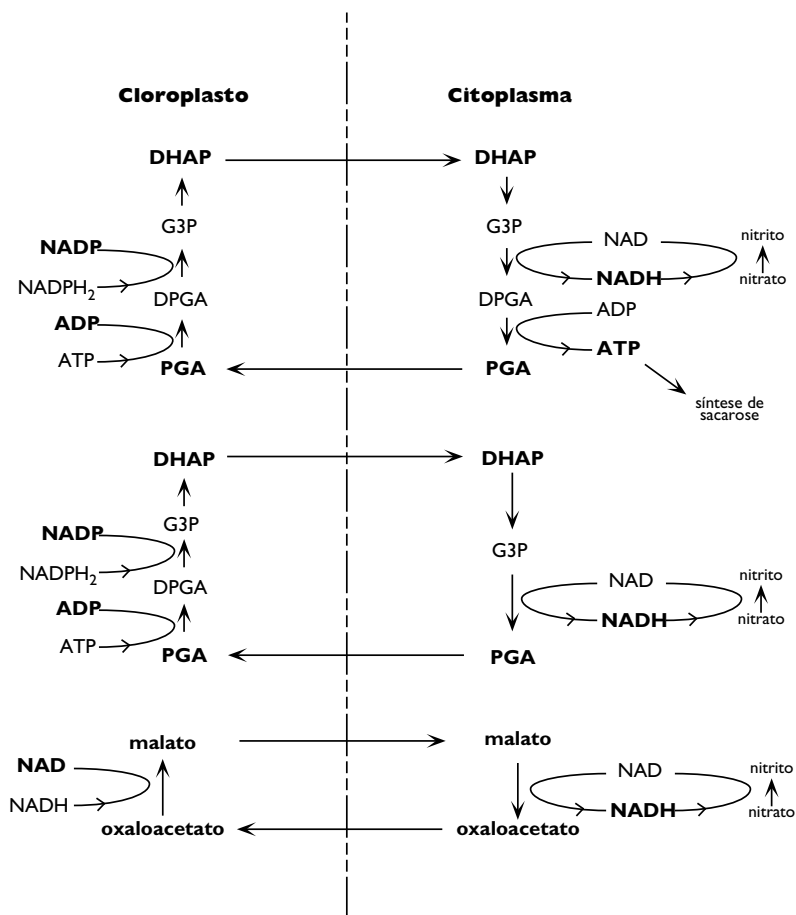


FIGURA 1. Transporte e interconversão de trioses e ácidos orgânicos entre o cloroplasto e o citoplasma. A interconversão destes compostos, dentro do cloroplasto, consome ATP e NADPH (ou NADH). As trioses-P são transportadas para o citoplasma, em um transporte associado à entrada de Pi para o cloroplasto. No citoplasma, a interconversão destes compostos, em sentido inverso, serve para gerar ATP e NADPH (ou NADH) neste compartimento. Tal processo é importante como mecanismo para fornecer ao citoplasma energia e poder redutor, pois ATP e NADPH (ou NADH) não atravessam a membrana cloroplástica. DHAP: dihidroxi-acetona-fosfato; G3P: gliceraldeído-3-fosfato; DPGA: ácido difosfo-glicérico; PGA: ácido fosfo-glicérico.

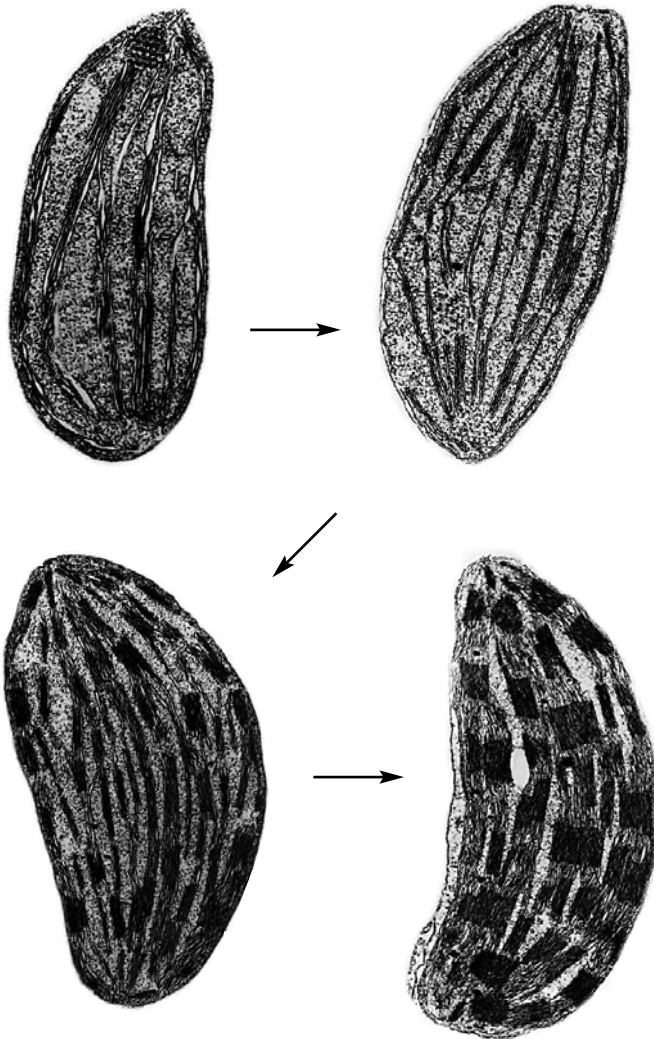


FOTO 1. Quatro estádios de desenvolvimento (aos 4, 5, 6 e 11 dias) para os 2 tipos de cloroplastos existentes em milho, uma planta C_4 do tipo NADP-ME:

Foto 1A. cloroplasto granar das células do mesófilo; e ...

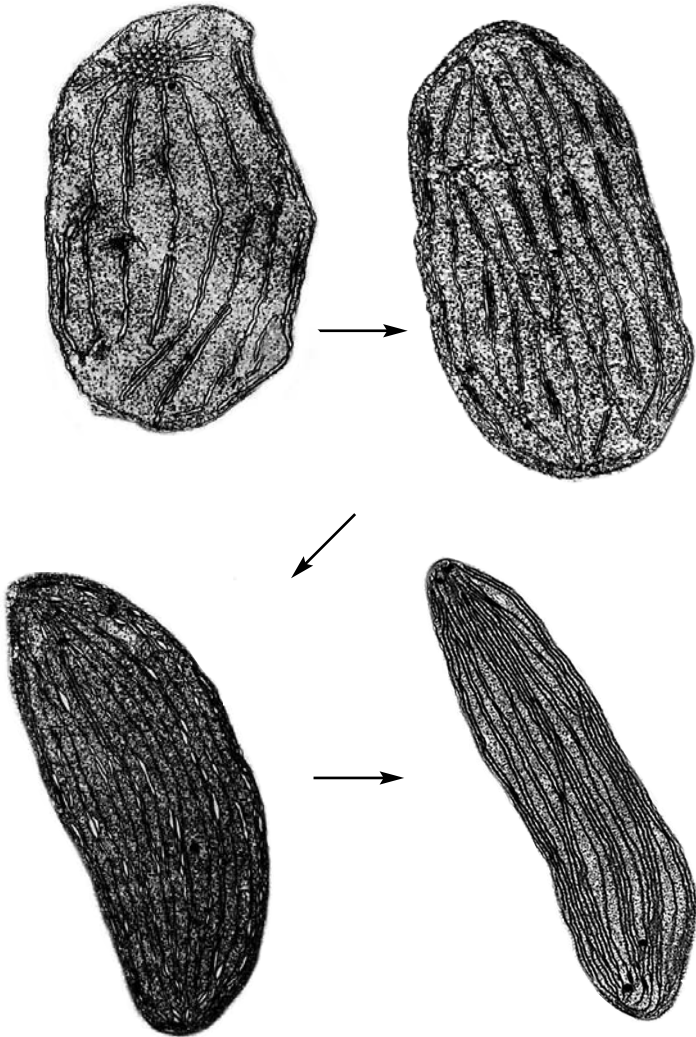


Foto 1B. cloroplasto agranal das células da bainha perivascular. No 4º dia, os cloroplastos dos 2 tipos são idênticos, com prolamelas em feixes. A diferenciação dos grana ocorre a partir do 5º dia, no cloroplasto granar. Fotos cedidas por cortesia do Prof. P. Louquet, da Universidade de Paris 12.

energia é liberada sob a forma de fluorescência, fosforescência, calor e energia química para excitar outros pigmentos, ou nos centros de reação dos fotossistemas, para promover a troca de elétrons entre moléculas, com potencial redox definido, componentes da cadeia de transporte de elétrons (Fig. 2). A fluorescência emitida durante tal processo, serve para avaliar a atividade dos fotossistemas (GOVINDJEE & FORK, 1986; NOBEL, 1991).

Para iniciar o processo de oxi-redução na cadeia de transporte de elétrons, que vai gerar o ATP e NADPH, um quantum de luz absorvido por um conjunto de 250 a 300 clorofilas, chamadas de antena, é transferido entre os pigmentos pelo mesmo processo inicial de absorção de energia, passando ou cedendo essa energia de molécula para molécula, com absorção de energia em diferentes (mas próximos) comprimentos de onda. A transferência de energia de um pigmento a outro se faz quando ocorre a de-excitação e retorno do elétron ao seu orbital de equilíbrio basal, no primeiro pigmento, promovendo a excitação do elétron mais externo do segundo pigmento. Assim, essa energia absorvida será transferida de um pigmento a outro, com absorção em comprimento de onda próximo. Essa transferência de energia entre os pigmentos se dá até um par especial de clorofilas a, que são os chamados centros de reação dos fotossistemas (o P680 e o P 700, na Fig. 2). Ao promover o evento da transferência de um elétron neste centro de reação, a clorofila especial atingirá um potencial redox mais negativo, e o seu elétron excitado, quando se de-excita, transferirá a energia para o primeiro composto da cadeia de transporte de elétrons, daquele fotossistema que teve seu centro de reação excitado. Os compostos da cadeia de transporte de elétrons situam-se lado a lado, na lamela dos tilacóides, que vão formar os grana, dentro dos cloroplastos. Os fotossistemas só serão funcionais naqueles cloroplastos que formarem as invaginações de lamelas tilacoidais, chamados grana. O lúmen do granum tem uma importância capital no transporte de H^+ do estroma para o seu interior, promovendo a formação do ATP, pela ATPase intratilacoidal; posteriormente há extrusão daquele H^+ (RITCHER, 1993).

Existem dois fotossistemas, com dois centros de reação: o fotossistema II (PS II) com absorção máxima a 680 nm e o fotossistema I com absorção máxima a 700 nm (PS I). Os dois fotossistemas atuam em conjunto no chamado esquema Z, como apresentado na Fig. 2 (AVRON, 1981; NOBEL 1991). A necessidade de funcionamento em conjunto se dá porque o fotossistema I absorve e libera energia, porém não promove a fotólise da água para a retirada dos elétrons, que serão transferidos entre os compostos da

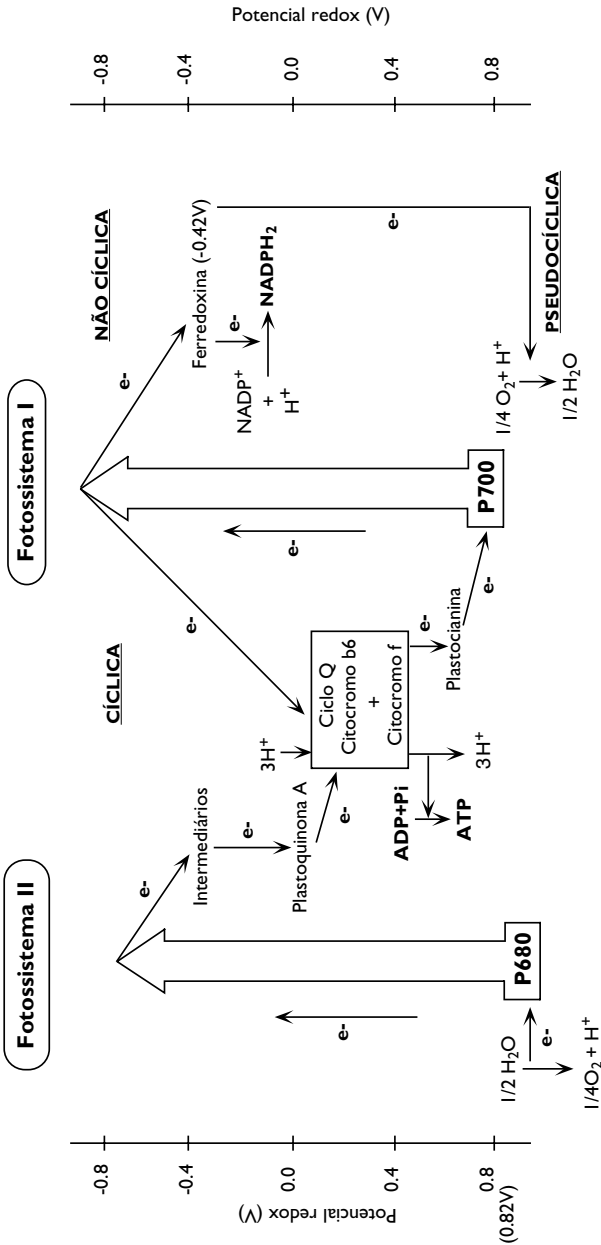
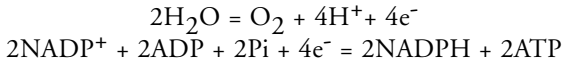


FIGURA 2. Esquema Z dos fotossistemas I (transporte de elétrons cíclico) e II (transporte de elétrons não cíclico). O transporte de elétrons pseudocíclico, ou reação de Mehler, usa os elétrons para a formação de H_2O . Adaptado de Nobel (1991). P 680: centro de reação do fotossistema II, que é uma clorofila absorvendo energia luminosa a 680 nm; P 700: centro de reação do fotossistema I, que é uma clorofila absorvendo a 700 nm; ciclo Q: complexo entre os citocromos b6 e f, associado com a ATPase do tilacóide, que promove o transporte de H^+ para o lúmen do gránium.

cadeia de transporte de elétrons, comum aos 2 fotossistemas. A fotólise da água está associada ao centro de reação do fotossistema II, o P680, transferindo os elétrons para a cadeia de transporte e liberando o O_2 fotossintético (LAWLOR, 1993).

A liberação de O_2 (que também serve para estimar-se a fotossíntese, pois para a assimilação de 1 mol de CO_2 há a liberação de 1 mol de O_2), a partir da fotólise da água, ocorre no lúmen dos grana, e a geração de NADPH está associada ao transporte não cíclico de elétrons, no PSII:



O $NADP^+$ é o aceptor final de elétrons no PS II. Se o elétron, após a excitação do P700, ao invés de ser transferido para o $NADP^+$, retornar para o complexo citocromo b/f (ciclo Q), haverá então somente geração de ATP, com o transporte cíclico de elétrons, no chamado PS I (RITCHER, 1993).

Sob certas condições fisiológicas de estresse, por salinidade, falta de água e deficiência de nutrientes, é possível que a ferredoxina transfira o seu e^- para o O_2 molecular, formando H_2O_2 , que deverá ser reduzido pela catalase, gerando mais ATP sem NADPH, na chamada reação de Mehler, que é o transporte pseudo-cíclico de elétrons. Esse processo tem também a função de produzir ATP adicional e consumir O_2 molecular, em condições de fotoinibição. O O_2 tem dois efeitos antagonistas sobre a fotossíntese, um de proteção, pela utilização de NADPH e ATP quando produzidos em excesso sob fotoinibição, pela fotorrespiração e pela reação de Mehler, e o outro destrutivo, pela ação das espécies ativas de oxigênio, como a H_2O_2 . Essas espécies ativas de oxigênio desestabilizam as membranas, como por exemplo, os tilacóides (VÁCHA, 1995).

A interação e o controle dos sistemas de transporte de elétrons são essenciais para o balanço de ATP e NADPH, necessários ao metabolismo vegetal (LÜTTGE et al, 1996). Aproximadamente 8 quanta de luz são necessários para a redução de 1 mol de CO_2 e liberação de 1 mol de O_2 , porém segundo FURBANK et al (1990), essa eficiência quântica pode ser alterada via ciclo Q, no complexo citocromo b_6/f , entre os dois fotossistemas. Este é um mecanismo que pode aumentar o fluxo de H^+ para o estroma, por elétron transportado a partir da plastoquinona. Como 2 a 3 moles de H^+ são requeridos por mol de ATP formado pela ATPase transmembranar, a alteração no fluxo de H^+ pode aumentar a produção de ATP para o ciclo C_4 , que consome mais ATP do que o ciclo C_3 (KRÖMER, 1995).

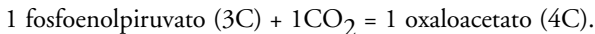
1.B. AS REAÇÕES ESCURAS

Existem duas vias metabólicas de assimilação do CO_2 atmosférico, que são as vias fotossintéticas C_3 e C_4 , porém a via C_3 ou ciclo de Benson-Calvin é a única via metabólica para produção de carboidratos, tanto para as plantas C_3 , quanto para as plantas C_4 . O metabolismo ácido das crassuláceas, em plantas ditas CAM, é uma variante da via C_4 , com separação temporal entre os eventos de assimilação, pela via C_4 , à noite e pela via C_3 , ao dia. Nessas plantas CAM, a assimilação do CO_2 externo pela via C_4 , que não depende de energia, ocorre à noite, e a via C_3 , dependente de energia, ocorre durante o dia, assim como a regeneração do substrato fosfoenolpiruvato (PEP) para iniciar o ciclo C_4 .

A via fotossintética C_3 , inicia-se pela assimilação do CO_2 :
 $1\text{CO}_2 + 1\text{ribulose-1,5-bifosfato (RuBP, com 5C)} = 2\text{ácido fosfoglicérico (PGA, com 3C)}$

Essa via tem como primeiro produto estável um ácido orgânico com 3 carbonos, por isso o nome de via C_3 . A reação inicial é catalizada pela enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco). A via C_3 também existe em plantas C_4 , só que todas as enzimas do ciclo de Benson-Calvin localizam-se unicamente nas células da bainha perivascular, na chamada anatomia “Kranz” das plantas C_4 (Foto 2).

Já a via fotossintética C_4 tem um ácido orgânico de 4 carbonos como primeiro composto produzido pela reação catalizada pela fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-case), nas células do mesófilo:



O oxaloacetato é transformado em malato ou aspartato, migrando em seguida para a bainha perivascular, onde é descarboxilado, liberando CO_2 e um ácido orgânico de 3 carbonos, que retorna ao mesófilo para regeneração do substrato da carboxilação primária. A via C_4 é fundamentalmente um mecanismo de concentração de CO_2 na bainha perivascular, promovendo o aumento da concentração deste substrato para a enzima rubisco, favorecendo a via C_3 .

A rubisco, que é uma enzima bifuncional, apresenta uma interação competitiva entre os substratos CO_2 , para a função carboxilase (fotossíntese, pelo ciclo de Benson-Calvin) e o O_2 , para a função oxigenase (fotorrespiração, pelo ciclo do glicolato-glicerato). Essas duas funções são indissociáveis para o funcionamento dessa enzima (OGREN, 1984; BRYCE & THORNTON, 1996).

1.B.1. O ciclo de Benson-Calvin de redução do carbono (via fotossintética C₃)

As enzimas e reações do ciclo de Benson-Calvin, que ocorrem no estroma dos cloroplastos, foram inicialmente estudadas e elucidadas pela equipe de Benson e Calvin, nos anos 50 (BENSON & BENSON-CALVIN, 1950), e podem ser vistas segundo as fases do ciclo.

a) Fase de carboxilação: a fixação do CO₂ (Fig. 3) inicia-se pela reação do CO₂ com uma molécula de ribulose-1,5- bifosfato (RuBP, 5C), catalizada pela ação carboxilase da rubisco, formando duas moléculas de ácido fosfoglicérico (PGA), que é um ácido orgânico de 3C.

b) Fase de redução: o PGA em seguida é reduzido a uma triose-P, o gliceraldeído- 3P (G-3P), com o consumo de dois NADPH e dois ATP, pois foram formados dois ácidos fosfoglicérico (PGA). Essa redução em duas etapas envolve, primeiramente, a fosforilação do PGA ao ácido 1,3- difosfoglicérico (1,3-DPGA), com consumo de um ATP, seguida da redução deste 1,3-DPGA a gliceraldeído-3P, com consumo de um NADPH (LAWLOR, 1995). Uma parte dessas trioses-P pode ser exportada para o citoplasma ou utilizada para a síntese de amido, ainda no cloroplasto. Porém, grande parte dessas trioses-P produzidas servirá para a regeneração do substrato inicial da carboxilação, a RuBP.

c) Fase de regeneração: de cada 3 moles de CO₂ fixados, com consumo de 3 ribulose-1,5-bifosfato, seis triose-P são produzidas, sendo que cinco servirão à regeneração do substrato RuBP para a carboxilação, com consumo de outro ATP, e uma será desviada para a síntese de hexoses, na fase de síntese de produtos da fotossíntese. A RuBP é regenerada por uma série complexa de reações envolvendo açúcares-fosfatados com 3-, 4-, 5-, 6- e 7- carbonos.

d) Fase de síntese dos produtos: os produtos finais da fotossíntese são primariamente os açúcares (dentre estes, primeiro são formadas as trioses-P) mas também serão produzidos lipídeos, aminoácidos e ácidos carboxílicos em função das condições de intensidade luminosa, CO₂ e O₂. Alta luminosidade com alta concentração de O₂ e baixa de CO₂, causam aumento da produção de ácido glicólico e glicina na fotorrespiração, enquanto baixa luminosidade induz formação dos ácidos glutâmico e aspártico. Da mesma forma, outros estresses ambientais podem induzir à formação de glicerol e lipídeos (HALL & RAO, 1994). A redução de uma molécula de CO₂ a CH₂O necessita de 3 ATP e 2 NADPH (5,2x10⁴ joules). (LAWLOR, 1993).

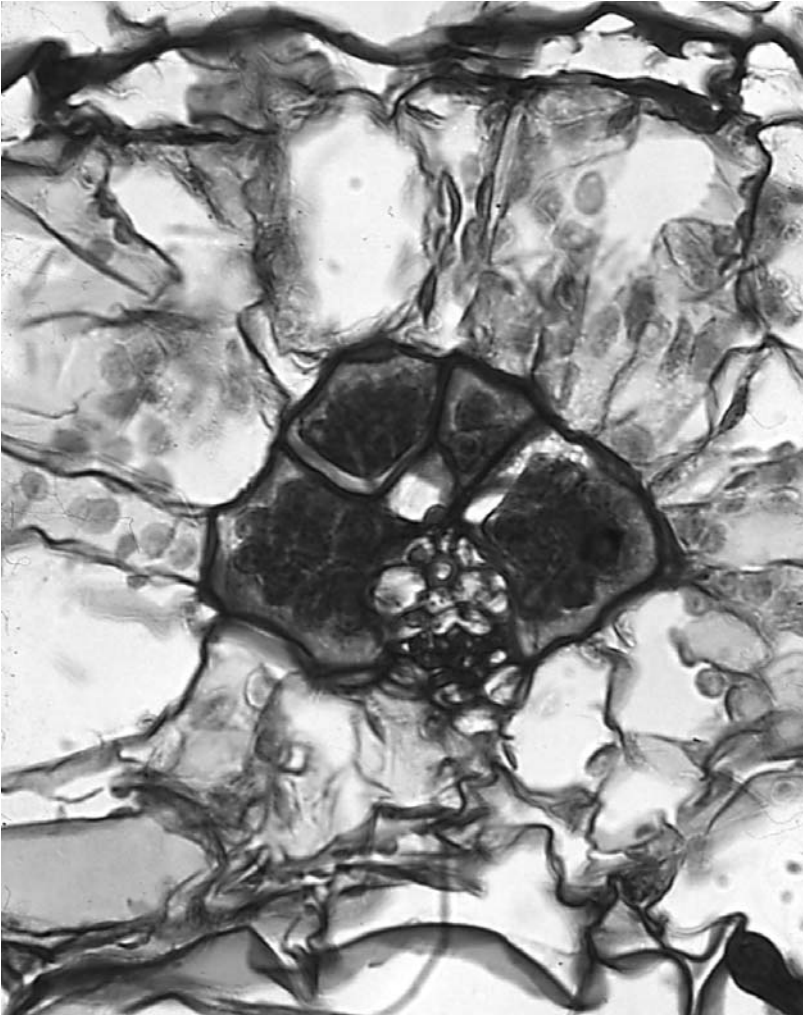


FOTO 2. Bainha perivascular de *Atriplex nummularia*, uma planta C_4 , evidenciando o acúmulo de amido somente nos cloroplastos da bainha perivascular.

As trioses-P formadas, que são consideradas o primeiro produto do ciclo de Benson-Calvin (LEEGOOD, 1996), poderão ser utilizadas para a respiração celular, para a síntese de sacarose e transporte para outras células, ou para a síntese de amido no próprio cloroplasto, como reserva da célula fotossintetizante. Essas trioses-P são importantes também, pois a interconversão entre elas produz NADPH e ATP, servindo para transportá-los. Por exemplo, a reação do G-3P a 1,3- DPGA e deste a PGA, produz NADPH e depois ATP, assim como a reação de dihidroxiacetona-fosfato (DHAP) a G-3P produz também NADPH e ATP (Fig. 1). A interconversão de ácidos orgânicos também pode ter a mesma finalidade, como a reação do ácido málico a ácido oxaloacético, produzindo NADPH. Esses produtos da fotossíntese, passando do cloroplasto para o citoplasma e vice-versa, servirão para o transporte de poder redutor (NADPH) e energia (ATP) produzidos nos fotossistemas para o citoplasma e, posteriormente, para outras células (LÜTTGE et al, 1996).

1.B.2. Metabolismo C₂ do glicolato-glicerato (fotorrespiração)

O O₂ pode causar três tipos de inibição fotossintética: a primeira, através da inibição direta da atividade da enzima rubisco, oxidando essa enzima e diminuindo a sua capacidade de fixação do CO₂. A segunda, pela oxidação de clorofilas, lipídios membranares e compostos intermediários dos fotossistemas, na fotoinibição. A terceira inibição ocorre pela função oxigenase da enzima rubisco, onde o substrato RuBP reage com o O₂ ao invés de reagir com o CO₂ (HALL & RAO, 1994). Essa função oxigenase, como a carboxilação, só ocorre em presença da luz e tem, por isto, o nome de fotorrespiração; possui, como primeiro produto, um composto com 3C, o ácido fosfoglicérico (PGA), que vai para o ciclo de Benson-Calvin, e um composto com 2C, o ácido fosfoglicólico (P-GLIC). A princípio, o ácido fosfoglicólico não tem função no metabolismo celular (Fig. 3). As duas funções da rubisco agem competitivamente, e a taxa fotorrespiratória varia de 15 a 45% da fotossíntese bruta (ZELITCH, 1971; LAWLOR, 1993). A taxa de liberação de CO₂ fotorrespiratório, que é de 3 a 8 vezes a taxa de respiração, é aumentada pela luz, temperatura e teores de O₂ (RITCHER, 1993). Portanto, em condições de alta luminosidade e altas temperaturas, a fotorrespiração de plantas C₃ é aumentada, e a taxa fotossintética e a produção de biomassa, diminuídas. (MARSCHNER, 1995).

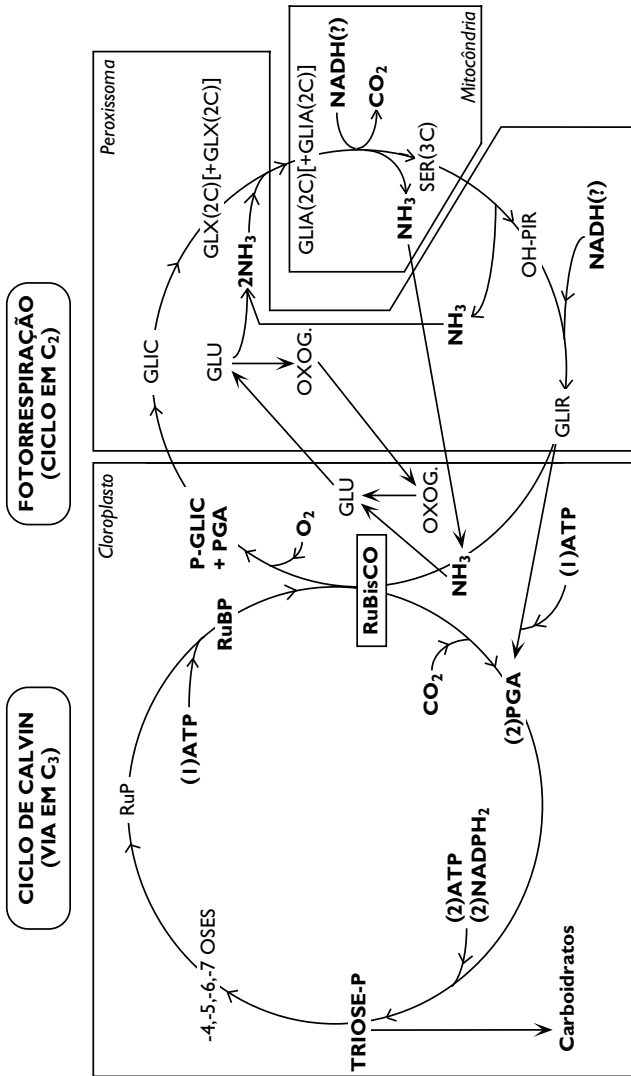


FIGURA 3. Via fotossintética C₃, pelo ciclo de Benson-Calvin, e o ciclo C₂, que é a fotorespiração. Adaptados de Lorimer et al (1977) e Leegood (1996). PGA: ácido fosfo-glicérico; 4-, 5-, 6-, 7- oses: carboidratos com 4, 5, 6 e 7 átomos de carbonos; RuP: ribulose-fosfato; RuBP: ribulose-bisfosfato; P-GLIC: fosfo-glicolato; GLIC: glicolato; GLX: glioxilato; GLIA: glicina; SER: serina; OH-PIR: hidroxi-piruvato; GLIR: glicerato; OXOG: oxoglutarato; GLU: glutamato.

O ácido fosfoglicólico, produzido na fotorrespiração, é desfosforilado a ácido glicólico (GLIC, Fig. 3) e exportado do cloroplasto para o peroxissoma, onde é oxidado a ácido glioxílico (GLX). A reação da glicolato oxidase, formando o ácido glioxílico, produz também H_2O_2 , que é reduzido pela ação da catalase. Em seguida, o ácido glioxílico é aminado gerando a glicina (GLIA). A formação da glicina é acoplada ao sistema glutamato sintase/glutamina sintetase (GS/GOGAT) do cloroplasto, e o ácido glutâmico formado é exportado para o peroxissoma, onde ocorre a transaminação, cedendo o grupamento amino ($-NH_2$) para a formação de uma glicina. O segundo grupamento amino para a segunda glicina, é oriundo da desaminação da serina (SER) a hidroxipiruvato (OH-PIR) no próprio peroxissoma (BRYCE & THORNTON, 1996).

A glicina formada é transportada para a mitocondria, onde duas glicinas (2C cada) são transformadas em uma serina (3C), liberando o CO_2 fotorrespiratório e o primeiro grupamento amino para a formação de uma glicina. A serina formada volta ao peroxissoma, onde é desaminada a ácido hidroxipirúvico, liberando o segundo grupamento amino para a formação da segunda glicina, havendo então um equilíbrio no fluxo de N (ZELITCH, 1973). Nessa organela, o ácido hidroxipirúvico é reduzido a ácido glicérico (GLIR) e este migra para o cloroplasto, onde é fosforilado a ácido fosfoglicérico (PGA) para entrar no ciclo de Benson-Calvin, consumindo pelo menos um ATP (OGREN, 1984).

Portanto, de cada quatro carbonos (duas glicinas) que entram na fotorrespiração, três carbonos são recuperados na forma do ácido fosfoglicérico e um é perdido na forma de CO_2 (HALL & RAO, 1994). Nessa via, além do consumo de ATP para a formação do ácido fosfoglicérico, há consumo de um NADPH na redução do ácido hidroxipirúvico a ácido glicérico (LORIMER & BADGER, 1981) no peroxissoma. Porém, OGREN (1984) afirma que este NADPH consumido é produzido na mitocôndria, durante a descarboxilação de uma glicina e liberação do CO_2 fotorrespiratório.

1.B.2.1. Possíveis funções da fotorrespiração

a) O ácido P-glicólico gerado pela função oxigenase da rubisco, não tem função específica no metabolismo vegetal, e seria uma perda de carbono se não houvesse o ciclo do glicolato-glicerato. Neste ciclo da fotorrespiração, há a recuperação de $3/4$ do C, com 1 PGA (3C) gerado e 1 CO_2 liberado (ZELITCH, 1973; LAWLOR, 1993).

b) A fotorrespiração pode servir para a síntese de aminoácidos a partir da transaminação de glicina e serina, produzidas na fotorrespiração. O fluxo de nitrogênio na fotorrespiração é dez vezes superior ao fluxo na assimilação primária de N, segundo LORIMER & ANDREWS, (1981). O ciclo de nitrogênio fotorrespiratório representa a maior parte da incorporação de NH_3 em folhas, na maioria das plantas C_3 , em presença de luz (MARSCHNER, 1995).

c) A evolução da enzima rubisco se deu, a princípio, em uma atmosfera rica em CO_2 e pobre em O_2 , quando surgiram os primeiros vegetais na terra (STRYER, 1995). Com a proliferação da vida no planeta, a atmosfera se enriqueceu em O_2 produzido pela fotossíntese destes primeiros vegetais, e a ação oxigenase, inerente à enzima rubisco, começou a tomar vulto. O surgimento de plantas mutantes com o ciclo glicolato-glicerato da fotorrespiração, onde há recuperação de parte do C, tornou-as mais eficientes do que aquelas que não o possuíam, e durante a evolução dos vegetais, somente aqueles com o ciclo da fotorrespiração sobreviveram (TOLBERT, 1981).

d) A fotorrespiração é um processo que utiliza energia luminosa, podendo então servir para evitar a fotoinibição, principalmente em plantas C_3 (HALL & RAO, 1994). A fotoinibição é devida à exposição da folha a altas intensidades luminosas, associado ao fechamento estomático, quando há uma menor disponibilidade de água, em um dia de alta insolação, por exemplo. Nessas condições onde há pouca redução fotossintética de CO_2 , pela baixa disponibilidade deste substrato com o fechamento estomático, o excesso de energia gerada pela alta luminosidade, associado às oxidações devido à alta relação de O_2/CO_2 , causariam danos irreversíveis à integridade das membranas dos tilacóides e aos centros de reação, principalmente ao fotossistema II (WU et al, 1991). A fotorrespiração nessas condições pode servir para dissipação do excesso de ATP e NADPH; para a geração de CO_2 interno, mantendo uma atividade da rubisco; e para o consumo de oxidantes fortes como a H_2O_2 , pela ação da catalase (LORIMER & ANDREWS, 1981; LÜTTGE et al, 1996).

1.B.3. A via fotossintética C_4 (Via de Kortschack, Hatch-Slack)

A via fotossintética C_4 é utilizada para a assimilação fotossintética em plantas C_4 , mas também em plantas CAM. As reações enzimáticas são as mesmas nos dois tipos de plantas, porém existem características distintas para cada uma delas.

1.B.3.1. Plantas C₄

Nos anos 60, KORTSCHACK et al. (1965) apresentaram resultados com cana-de-açúcar, onde os primeiros compostos estáveis na fotossíntese eram ácidos orgânicos com 4C, os quais eram requeridos para posterior síntese do PGA. Persuadidos por KORTSCHACK, HATCH & SLACK (1966) identificaram algumas enzimas da via C₄, assim como apresentaram evidências da localização e distribuição de certas enzimas entre o mesófilo e a bainha perivascular da anatomia “Kranz”, essencial para as plantas C₄ (Fig. 4). A anatomia “Kranz”(coroa ou grinalda em alemão) já era conhecida por HABERLANDT (1884), sem que se soubesse o seu significado fisiológico. As plantas C₄ possuem a anatomia do tipo “Kranz”, com células distintas no mesófilo e na bainha perivascular. Algumas plantas chamadas intermediárias C₃-C₄, podem apresentar maior atividade da fosfoenolpiruvato carboxilase, sem ter a anatomia “Kranz”, não sendo, portanto, consideradas plantas C₄ (EDWARD & WALKER, 1983).

Nas plantas C₄, a parede celular, entre as células externas da bainha perivascular e as células mais internas do mesófilo, possui um número de plasmodesmos muito superior às outras paredes celulares, permitindo assim o trânsito dos ácidos orgânicos para o metabolismo C₄, e também o trânsito de trioses-P, que transportarão energia e poder redutor (Fig. 1) para o ciclo C₃, na bainha perivascular (LÜTTGE et al, 1996).

Na via C₄, o CO₂ atmosférico é fixado em um ácido orgânico com 3C, o fosfoenolpiruvato (PEP) nas células do mesófilo, produzindo ácidos orgânicos de 4C. Tais ácidos orgânicos de 4C migram para a bainha perivascular, onde são descarboxilados, liberando CO₂, e um ácido orgânico de 3C, que retorna ao mesófilo para regeneração do substrato de 3C, visando a carboxilação primária. Portanto, na via C₄ não ocorre produção de carboidratos, e ela servirá somente para aumentar a concentração do CO₂ na bainha perivascular, favorecendo a ação carboxilase da rubisco (PEISKER & HENDERSON, 1992).

Essa via C₄ inicia-se, então, pela fixação do CO₂ no PEP (3C), formando o ácido oxaloacético (OXA) com 4C (STRYER, 1995), pela ação de fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-case) que se encontra no citoplasma (O’LEARY, 1982), conforme a Fig. 4. O ácido oxaloacético produzido pode, então, ser transformado em ácido málico (MAL), com gasto de 1 NADPH, ou em ácido aspártico (ASP). As duas reações

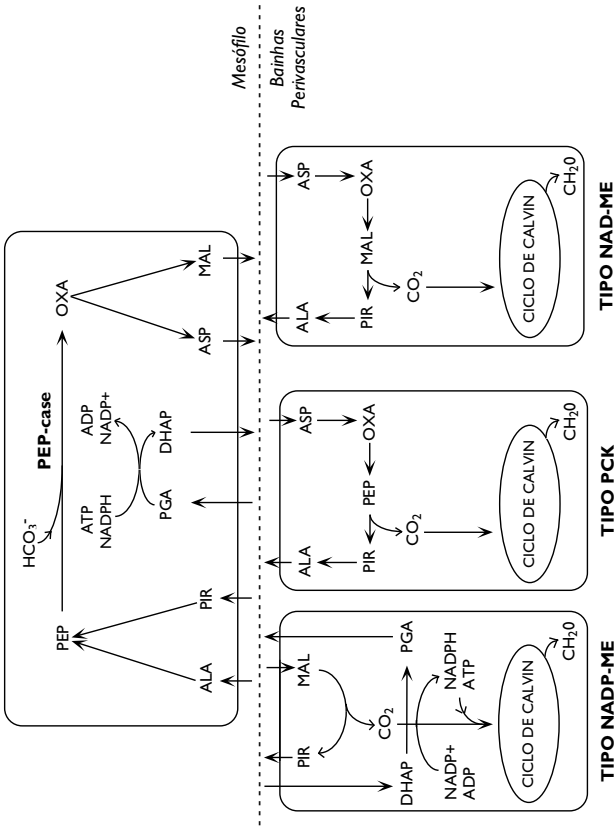


FIGURA 4. Via fotossintética C_4 , com os três subgrupos, segundo a enzima de descarboxilação na bainha perivascular: NADP-ME: enzima málica NADP dependente; PCK: enzima fosfoenolpiruvato carboxicinase; e NAD-ME: enzima málica NAD dependente. Baseado em Hatch (1976) e Lawlor (1993). OXA: oxaloacetato; MAL: malato; ASP: aspartato; ALA: alanina; PIR: piruvato; PEP: fosfoenolpiruvato; PGA: ácido fosfo-glicérico; DHAP: dihidroxi-acetonafosfato; CH_2O : carboidratos.

ocorrem na natureza, porém maior atividade de uma das reações sempre existe, levando já a uma pré-classificação das plantas C_4 como sendo plantas a malato ou a aspartato (HATCH, 1976). Estes ácidos orgânicos com 4C, o málico ou o aspártico, migram então para a bainha perivascular, onde serão descarboxilados por uma das três enzimas de descarboxilação, liberando CO_2 para ser incorporado à RuBP, no ciclo de Benson-Calvin. Segundo a enzima de descarboxilação do ácido com 4C, as plantas serão classificadas em três tipos (Fig. 4). Os ácidos com 3C resultantes da descarboxilação, o ácido pirúvico (PIR) ou a alanina (ALA), retornam ao mesófilo consumindo 2 a 3ATP para regenerar o substrato da carboxilação primária C_4 , o ácido fosfoenolpirúvico (RICHTER, 1993). Portanto, a via C_4 serve para transportar e concentrar o CO_2 na bainha perivascular, onde se dará a sua redução a açúcares pela via C_3 , que é a única via metabólica de síntese de carboidratos. Essa concentração de CO_2 na bainha perivascular aumentará a eficiência de síntese de açúcares, pois com alto teor de CO_2 haverá maior atividade carboxilase da rubisco, em detrimento da atividade oxigenase. Há um gasto em torno de 5 ATP e 2 NADPH na via C_4 , porém o aumento do fluxo de H^+ via ciclo Q nas plantas C_4 , produzirá ATP complementar (FURBANK et al, 1990).

A regulação dos eventos C_4 no mesófilo já está bem caracterizada, porém a regulação da descarboxilação e o transporte de metabólitos na bainha perivascular são menos esclarecidos, sobretudo pela dificuldade de se conseguir grandes quantidades de tecido dessa bainha. Os estudos sobre o controle da fotossíntese C_4 estão ainda no começo, mas os trabalhos que estão sendo feitos com mutantes de *Amaranthus edulis*, sem algumas enzimas C_4 , e plantas transgênicas de *Faveria bidensis*, no CSIRO-Austrália, poderão impulsionar o conhecimento dos mecanismos de controle da fotossíntese C_4 (LEEGOOD, 1996).

Como visto, há um separação espacial dos eventos C_4 e C_3 nessas plantas, o primeiro ocorrendo no mesófilo e o segundo na bainha perivascular (APEL, 1994). A síndrome C_4 é particularmente proeminente nas famílias *Gramíneas*, *Ciperáceas* e *Chenopodiáceas*. Nessa última, o gênero *Atriplex* possui espécies C_3 e C_4 , o que permite uma comparação mais próxima entre as duas vias fotossintéticas para estudos sobre o comportamento de plantas C_4 (BJÖRKMAN et al., 1971; PIMENTEL, 1985). É importante ressaltar também que oito entre as dez ervas invasoras mais importantes na agricultura usam a via C_4 (NOBEL, 1991).

1.B.3.2. Os três subgrupos de plantas C_4 - bioquímica, fotoquímica e taxonomia

As plantas C_4 são classificadas em três subgrupos, segundo a descarboxilação do ácido C_4 na bainha perivascular (Fig. 4):

A) plantas a aspartato do tipo NAD-ME (enzima málica-dependente de NAD^+): o ácido aspártico vindo do mesófilo é desaminado, transformando-se em ácido oxaloacético pela aspartato aminotransferase. Em seguida, este é reduzido a ácido málico pela enzima malato desidrogenase-dependente de NADH, e é então descarboxilado a ácido pirúvico (PIR) pela enzima málica-dependente de NAD^+ , com liberação do CO_2 e produção de NADH, consumido na reação anterior. O ácido pirúvico é aminado pela alanina aminotransferase transformando-se em alanina (ALA), que retornará ao mesófilo para regenerar o substrato fosfoenolpiruvato. Os cloroplastos da bainha perivascular das plantas C_4 do tipo NAD-ME (Fig. 4) são granares e com posição centrípeta nas células da bainha, produzindo assim ATP e NADPH, requeridos para o ciclo de Benson-Calvin (EDWARDS & HUBER, 1981). São exemplos de plantas C_4 do tipo NAD-ME, as espécies do gênero *Amaranthus*, *Atriplex* e *Panicum*, à exceção de algumas como o *Panicum maximum*, que é do tipo PCK (fosfoenolpiruvato carboxicinas).

B) plantas a aspartato do tipo PCK (fosfoenolpiruvato carboxicinas): onde o ácido aspártico vindo do mesófilo é desaminado, transformando-se em ácido oxaloacético pela aspartato aminotransferase. Em seguida, este é descarboxilado pela fosfoenolpiruvato carboxicinas em presença de ATP, formando o ácido fosfoenolpirúvico. Esse último é desfosforilado a ácido pirúvico formando o ATP consumido anteriormente, para então ser aminado e transformado em alanina pela alanina aminotransferase que retornará ao mesófilo para completar o ciclo. Os cloroplastos da bainha perivascular das plantas do tipo PCK são granares e com posição centrífuga nas células da bainha, produzindo ATP e NADPH requeridos no ciclo de Benson-Calvin (EDWARDS & HUBER, 1981; LEEGOOD, 1996). Neste tipo existem o gênero *Brachiaria* e a espécie *Panicum maximum*.

C) plantas a malato do tipo NADP-ME (enzima málica dependente de $NADP^+$): nessas, o ácido málico vindo do mesófilo é descarboxilado diretamente a ácido pirúvico pela enzima málica-dependente do $NADP^+$, liberando CO_2 e NADPH para o ciclo de Benson-Calvin. O ácido pirúvico retorna ao mesófilo, visando a regeneração do substrato para a carboxilação primária. Neste tipo de plantas, os cloroplastos da bainha perivascular são

localizados centrifugamente, próximos da parede limite com o mesófilo, e são agranares (Foto 1B), com baixo conteúdo de clorofilas e deficientes no PS II (HALL & RAO, 1994). Por isso, um dos dois NADPH necessários para o ciclo de Benson-Calvin é fornecido na descarboxilação do ácido málico, na bainha perivascular (Fig. 4) e o outro, assim como o ATP necessário, é oriundo da interconversão de ácido fosfoglicérico em outras trioses-P, que transitam entre o mesófilo e a bainha. Portanto, em plantas C_4 do tipo NADP-ME, a redução do CO_2 na bainha perivascular é dependente da geração de NADPH e ATP nos cloroplastos do mesófilo (EDWARDS & HUBER, 1981). São classificadas como plantas C_4 deste tipo, as espécies dos gêneros *Andropogon*, *Saccharum*, *Sorghum*, *Zea* e *Paspalum*, que são entre outras as principais plantas C_4 cultivadas.

1.B.3.3. Características de plantas C_4

A síndrome C_4 não pode funcionar sem que a planta possua o conjunto de características abaixo relacionadas. Inclusive para a classificação de uma espécie como sendo C_4 , a avaliação deste conjunto de características é necessário. Como será visto adiante existem vegetais que possuem somente algumas destas características e portanto não podem ser consideradas plantas C_4 , sendo classificadas como intermediárias C_3 - C_4 (LÜTTGE et al, 1996).

a) Ponto de compensação de CO_2 próximo ou igual a zero: o ponto de compensação de CO_2 traduz a concentração de CO_2 (na atmosfera de uma câmara com uma planta iluminada, em um circuito fechado) atingida quando ocorre o equilíbrio entre as reações de carboxilação, através da fotossíntese e de descarboxilação, devidas essencialmente à fotorrespiração. A fotorrespiração equivale a 70 a 80% das descarboxilações na presença de luz, enquanto a respiração obscura equivale somente a 10 a 15% dessas. Contudo, a respiração obscura é importante durante o período noturno, podendo representar um gasto total de 50% do carbono assimilado durante o dia (BRYCE & THORNTON, 1996).

Nas plantas C_3 , devido à liberação de CO_2 fotorrespiratório, o ponto de compensação de CO_2 varia entre 30 e 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$. Já na via C_4 , onde não existe o efeito inibidor do O_2 sobre a fotossíntese e sobre a enzima de carboxilação, mesmo havendo alguma atividade fotorrespiratória na bainha perivascular, o CO_2 liberado será recapturado pela PEP-case, que tem uma grande afinidade pelo CO_2 (Tab. 2) (OGREN, 1984). Porém outros autores como BROWN & BYRD (1993), afirmam que a não liberação de

fotorrespiratório nas plantas C_4 é devido à baixa condutividade para o CO_2 , nas células da bainha perivascular. Por estes motivos, o ponto de compensação em CO_2 de plantas em C_4 se aproxima de zero, pois não há liberação de CO_2 para a atmosfera.

b) anatomia “Kranz”: essa característica é essencial para as plantas C_4 , pois ela é imprescindível para a separação espacial dos eventos C_4 e C_3 . Algumas plantas, classificadas como intermediárias C_3 - C_4 , possuem as enzimas da via C_4 sem apresentarem a anatomia “Kranz”. Existem também plantas C_3 que apresentam essa anatomia “Kranz” (BJÖRKMAN et al., 1971) e por isso, este tipo de anatomia por si só não pode ser usado para classificar uma planta como sendo C_4 . Essa característica foi considerada por muito tempo como essencial para o funcionamento da via C_4 , porém existem espécies, como *Suaeda monoica*, que funcionam com a via C_4 sem possuírem a anatomia “Kranz” (CHAMPIGNY & MOYSE, 1983).

Portanto, as plantas C_4 possuem dois tipos distintos de células e no caso do tipo NADP-ME, dois tipos de cloroplastos (granar e agranar), diferenciando-as das plantas C_3 com sua anatomia dorsi-ventral e um único tipo de cloroplasto. As plantas C_4 possuem também um conjunto adicional de genes e um mecanismo regulador da expressão específica para cada tipo de célula, nestes genes (FURBANK & TAYLOR, 1995). Essas células são as do mesófilo com maiores espaços livres entre elas, onde ocorrem os eventos C_4 , e as células da bainha perivascular, envolvendo os vasos condutores, com abundância de mitocôndrias e peroxissomas e com pouco ou nenhum espaço intercelular (Foto 2). Nessas células da bainha perivascular ocorrem os eventos C_3 e a síntese de carboidratos (FURBANK & TAYLOR, 1995) (Fig. 4). Tal disposição mesófilo, bainha e vasos conseqüentemente é bastante favorável às trocas e migrações de metabólitos entre estes tecidos (EDWARDS & WALKER, 1983; LEEGOOD, 1996).

c) discriminação isotópica do ^{13}C : o fracionamento isotópico $^{13}C/^{12}C$ (dois isótopos existentes no ar), indica uma relação entre a assimilação do ^{13}C e do ^{12}C . A fixação primária do CO_2 pela PEP-case nas plantas C_4 , está associada a uma baixa discriminação isotópica do ^{13}C sobre o ^{12}C , variando entre -5,7 e -15%. Enquanto a fixação do CO_2 pela rubisco está associada a maior discriminação, variando de -20 a -35% (PEISKER & HENDERSON, 1992). A discriminação isotópica também pode ser usada para analisar-se os efeitos de um estresse ambiental, que afete a disponibilidade do CO_2 , como a falta de água por exemplo (FARQUHAR et al, 1989). A menor discriminação isotópica está associada à manutenção de um status hídrico elevado, devido ao

controle estomático ou ao sistema radicular desenvolvido e conseqüentemente, a maior eficiência no uso de água (KELLY & WOODWARD, 1995), como por exemplo, para as plantas C_4 quando comparadas às C_3 (HALL & RAO, 1994).

1.B.3.4. Plantas intermediárias C_3 - C_4

Existem algumas espécies que não podem ser classificadas pelos critérios padrões nem como C_3 nem como C_4 , por terem características de ambos os grupos. A descoberta destes vegetais estimulou a hipótese de que as plantas C_4 sejam uma evolução recente a partir de plantas C_3 (APEL, 1994). Este comportamento intermediário foi primeiramente notado por BJÖRKMAN et al. (1971) que obteve híbridos entre espécies de *Atriplex* C_3 e C_4 , cujos F1 e F2 resultaram em plantas com uma gama de atividades da PEP-case e vários graus de desenvolvimento da anatomia “Kranz”.

No gênero *Mollugo*, que possui espécies C_3 e C_4 , a espécie *Mollugo verticillata* é considerada intermediária C_3 - C_4 , apresentando ácidos C_3 e C_4 como primeiros produtos da fotossíntese, nível intermediário de fotorrespiração e bainha perivascular contendo cloroplastos. Outros exemplos são no gênero *Panicum*, a espécie *Panicum milioides*, e no gênero *Moricandia*, a espécie *Moricandia arvensis*, também consideradas plantas intermediárias C_3 - C_4 com anatomia “Kranz”, sem efeito inibidor do O_2 e atividade da PEP-case superior à das plantas C_3 (EDWARDS & WALKER, 1983).

1.B.3.5. Plantas com o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM)

A nomenclatura, metabolismo ácido das crassuláceas, deve-se ao fato desse comportamento CAM ter sido identificado, primeiramente, em plantas da família das crassuláceas. O termo ácido foi utilizado porque essa via se caracteriza por um acúmulo de ácidos orgânicos C_4 durante a noite, e consumo destes, durante o dia (Fig. 5). Muitas plantas suculentas são CAM como, por exemplo, nas famílias *Agavaceae*, *Bromeliaceae*, *Cactaceae*, *Crassulaceae*, *Euphorbiaceae* e *Orchidaceae*.

As plantas CAM utilizam a via C_4 , porém de uma forma distinta das plantas C_4 . As plantas C_4 fazem uma separação espacial dos eventos, enquanto as plantas CAM fazem uma separação temporal. As plantas CAM não possuem a anatomia “Kranz”; são em geral plantas suculentas, com parênquima e vacúolos grandes, estocando água. Algumas são CAM

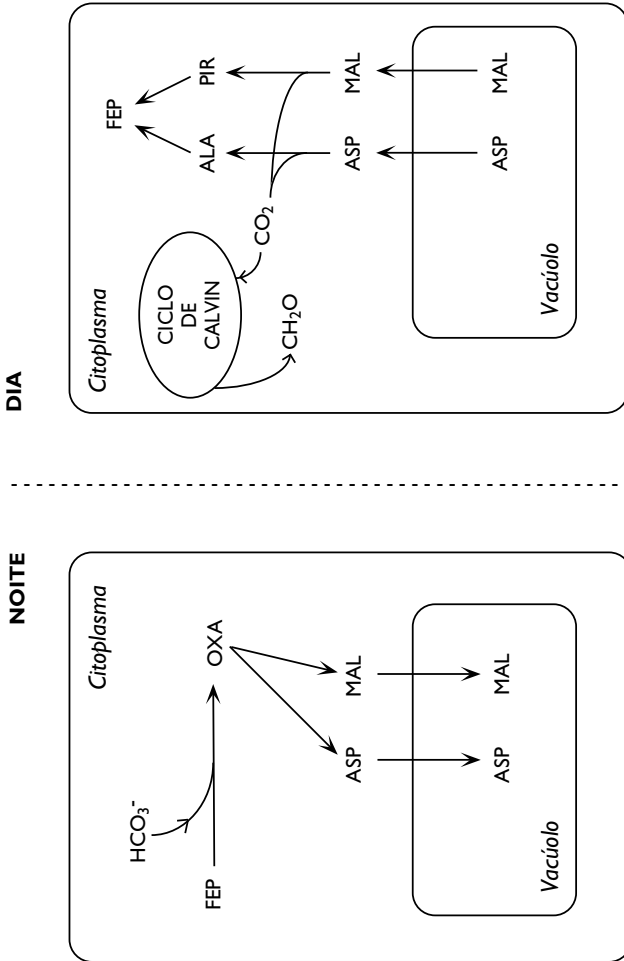


FIGURA 5. Metabolismo Ácido das Crassuláceas (plantas CAM). Baseado em Hall & Rao, (1994). PEP: fosfoenolpiruvato; OXA: oxaloacetato; ASP: aspartato; MAL: malato; ALA: alanina; PIR: piruvato; e CH_2O : carboidratos.

obrigatórias, funcionando sempre com este mecanismo, enquanto outras como *Ananas comosus*, *Agave sisalana*, *Opuntia ficusindica* e espécies das famílias *Bromeliaceae* e *Orchidaceae* desenvolvem-se com a via C_3 , porém sob estímulo de falta de água, salinidade, fotoperíodo ou termoperíodo, passam a apresentar o comportamento CAM (LÜTTGE et al, 1996). O comportamento CAM não permite uma grande acumulação de matéria seca, porém economiza água, podendo então ser considerado como a única via fotossintética que confere adaptação à seca (OSMOND & HOLTUM, 1981). Algumas plantas CAM facultativas podem atingir alta produtividade, quando funcionando como C_3 , porém quando essas plantas apresentam o comportamento CAM, devido à um estresse ambiental, a acumulação de matéria seca é reduzida.

No metabolismo CAM as plantas fecham os estômatos durante o dia, prevenindo assim a perda de água. Durante a noite, com pouca transpiração devido ao baixo déficit de pressão de vapor, elas abrem os estômatos, e o CO_2 é fixado ao ácido fosfoenolpirúvico (PEP, Fig. 5) pela ação da PEP-case, pois essa reação não depende de ATP ou NADPH. Assim, o carbono é assimilado na forma de ácidos orgânicos, aspártico (ASP) e málico (MAL), acumulados nos vacúolos. Durante o dia, economizam água com os estômatos fechados, pois já assimilaram o CO_2 , e então descarboxilam estes ácidos orgânicos pelas mesmas vias de descarboxilação C_4 , fornecendo o CO_2 para o ciclo de Benson-Calvin que, este sim, depende da energia luminosa (HALL & RAO, 1994). Essas plantas podem permanecer longos períodos, de 100 a 200 dias sem abrir os estômatos durante o dia, economizando água, porém com baixo acúmulo de matéria seca (OSMOND & HOLTUM, 1981; NOBEL, 1991). Para a economia de água, além dessa vantagem, as plantas CAM têm uma frequência estomática (em torno de $2.500 \text{ estômatos.cm}^{-2}$) dez vezes menor que plantas C_3 (em torno de $20.000 \text{ estômatos.cm}^{-2}$) (OSMOND et al., 1982).

1.C. ECOFISIOLOGIA DE PLANTAS C_3 , C_4 E CAM

A adaptação das plantas com diferentes vias fotossintéticas ao ambiente tropical, dependerá, em grande parte, das características das duas enzimas primárias de carboxilação, a **rubisco** e a **PEP-case** (Tab. 1). Em função da capacidade de assimilação de CO_2 e consumo de nitrogênio para a síntese de uma ou outra enzima, as plantas com as diferentes vias de assimilação de CO_2 apresentarão características diferentes, principalmente no ambiente tropical.

TABELA 1. Características das enzimas ribulose, 1-5, bisfosfato carboxilase/oxigenase (rubisco) e fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-case).

A rubisco é um heterômero, consistindo de 8 grandes subunidades de 50-55 kDa e 8 pequenas subunidades de 12-15 KDa, com um peso molecular de aproximadamente 536 KDa. As grandes subunidades tem seu genoma no DNA cloroplástico e as pequenas subunidades no DNA nuclear (Raines et al, 1991). Já a PEP-case é um tetrâmero com monômeros de 100 KDa (O'Leary, 1982).

CARACTERÍSTICAS	PEP-case	rubisco
Localização	citoplasma	cloroplasto
Substrato	HCO ₃ ⁻	CO ₂
Km *	p/HCO ₃ ⁻ 100 a 160mM	p/CO ₂ 20mM
Consumo de N, para a síntese.	Em plantas C ₄ 10% Em plantas C ₃ Insignificante	10-25% >50%

* para uma concentração atmosférica de 250 µL.L⁻¹ de CO₂, o que está abaixo da concentração atual, com pH de 8,0 e temperatura de 30°C no citoplasma, a concentração de CO₂ é de 7,4 mM e de HCO₃⁻ é de 331mM, o que é baixo para a rubisco e suficiente para a PEP-case (O'Leary, 1982).

Neste ambiente, os vegetais precisam economizar água e nitrogênio, que são em geral limitantes (NORMAN et al, 1995). Para isto, as plantas C_4 e CAM são mais eficientes no uso de água e de nitrogênio devido ao seu maior controle estomático, em função da alta afinidade da PEP-case pelo substrato, e menor uso de nitrogênio para a síntese das enzimas de carboxilação (RICHTER, 1993).

1.C.1. Características das enzimas ribulose,1-5, bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco) e fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-case)

A **rubisco** é um heterômero, consistindo de 8 grandes subunidades de 50-55 kDa, e 8 pequenas subunidades de 12-15 kDa, com um peso molecular de aproximadamente 536 kDa. As grandes subunidades têm seu genoma no DNA cloroplástico (*rbcL*), e as pequenas subunidades no DNA nucleolar (*rbcS*) (FURBANK & TAYLOR, 1995). Essas subunidades só são funcionais quando associadas dentro do cloroplasto, depois da ação de proteinases, para a maturação da enzima, e assim passar à forma ativa (LEVY & ADAM, 1995). As pequenas subunidades são sintetizadas nos polissomas citoplasmáticos e são importadas e processadas pelos cloroplastos para associação com as grandes subunidades sintetizadas nestes (GUTTERIDGE & GATENBY, 1995). A ativação da rubisco parece ser regulada por uma enzima cloroplástica, a rubisco ativase (PORTIS, 1992), sendo essa controlada indiretamente pela intensidade luminosa, pois a luz estabelece um gradiente de H^+ e Mg^{2+} favorável, e permite a síntese de ATP, necessária à ação da rubisco ativase (CAMPBELL & OGREN, 1995).

Já a **PEP-case** é um tetrâmero com monômeros de 100 kDa, ativada em presença de luz em plantas C_4 e, ao contrário, desativada pela luz em plantas CAM. Nestas últimas, a enzima é sintetizada de novo no início da noite. Provavelmente a enzima em plantas C_4 e em plantas CAM, seja isoenzimas, diferindo em sua cinética. Para a sua ativação são necessários os substratos fosfoenolpiruvato e bicarbonato, o Mg^{2+} e o pH entre 7,5 e 9,5 (O'LEARY, 1982).

Os genes que codificam as pequenas subunidades da rubisco estão entre os primeiros genes vegetais a serem isolados e seqüenciados no tomateiro. Já temos também evidências de que é possível interferir na relação carboxilase/oxigenase, substituindo resíduos na grande subunidade que não são essenciais para a catálise (RAINES et al, 1991).

a) Localização: a enzima rubisco se localiza nos cloroplastos, enquanto a PEP-case se localiza no citoplasma (Tab. 1) (LÜTTGE et al, 1996). Com isto, as plantas C₄ já apresentam uma vantagem pois o substrato só precisa vencer uma barreira celular, a plasmalema, enquanto nas C₃, ele deve atravessar também a membrana cloroplástica.

b) Substrato, afinidade (Km) e eficiência de carboxilação: a rubisco tem uma forte afinidade pelo CO₂, enquanto a PEP-case tem pelo HCO₃⁻, o que é uma vantagem para as C₄, pois em soluções próximas da neutralidade, como é o caso do citoplasma, o HCO₃⁻ representa em torno de 2/3 do C, enquanto o CO₂ representa 1/3 aproximadamente. A atividade da rubisco, além de depender da rubisco ativase, depende também da ação da anidrase carbônica, com uma atividade muito superior em plantas C₃ (PORTIS, 1992). Ainda sobre a afinidade pelo substrato, a rubisco apresenta um Km (CO₂) em torno de 20 mM (LORIMER et al, 1977) e a PEP-case tem um Km (HCO₃⁻) alto entre 100 e 160 mM, porém para uma concentração atmosférica de 250µL.L⁻¹ de CO₂, o que está abaixo da concentração atual, com pH de 8,0 e temperatura de 30°C no citoplasma, a concentração de CO₂ é de 7,4 mM e de HCO₃⁻ é de 331mM, o que é baixo para a rubisco e suficiente para a PEP-case (O'LEARY, 1982; LAWLOR, 1993).

A maior eficiência de carboxilação da PEP-case, em plantas C₄, está principalmente associada à ausência da atividade oxigenase, portanto nas plantas C₄ não há competição entre o CO₂ e O₂. Já a atividade da rubisco é dependente do teor de CO₂ e de O₂ atmosférico, sendo a fotossíntese C₃, sob intensidades luminosas saturantes, inibida de 20 a 40% pelo O₂ (BROWN & BYRD, 1993). A limitação da assimilação de CO₂ na via C₃ é devida também à taxa de regeneração de RuBP, dependente do transporte de elétrons nos fotossistemas, ou regeneração de Pi (MAKINO, 1994), e da taxa de utilização das trioses-P pelo vegetal, o que causa as diferenças nas taxas de assimilação de CO₂, nas diversas plantas C₃. Essa taxa é superior em plantas herbáceas quando comparadas às lenhosas perenes (WULLSCHLEGER, 1993).

c) Consumo de nitrogênio para a síntese das enzimas de carboxilação: em folhas C₃ a rubisco equivale a mais de 50% das proteínas solúveis (GUNASEKERA & BERKOWITZ, 1993), enquanto em folhas C₄ essa corresponde a 10-25%. Já a PEP-case, em folhas C₄, corresponde somente a 10% das proteínas solúveis. Existe, portanto, um gasto de no máximo 35% do N foliar para síntese das enzimas de carboxilação em plantas C₄, enquanto em plantas C₃ este gasto está em cerca de 50% do N foliar (SINCLAIR & HORIE, 1989).

1.C.2. Respostas das plantas C₃, C₄ e CAM aos fatores ambientais

O pensamento científico sobre a fotossíntese C₄ durante a evolução das angiospermas, foi muito influenciado pela descoberta das plantas intermediárias C₃-C₄. O fato de existirem plantas com um comportamento intermediário entre C₃ e C₄, que estariam evoluindo da via C₃ para a via C₄, leva a crer que as plantas C₄ sejam uma evolução a partir de plantas C₃ quando do enriquecimento da atmosfera em O₂, inibidor da fotossíntese C₃. Tal evolução se daria pela seleção de genótipos possuidores do mecanismo de concentração de CO₂ (suprimindo o efeito inibitório do O₂ em baixas concentrações atmosféricas de CO₂), permitindo maior adaptação aos fatores ambientais adversos, principalmente em clima tropical, como a deficiência de água e de nitrogênio, salinidade e temperaturas altas (Tab. 2). A evolução de plantas C₄ provavelmente iniciou-se durante o Paleoceno, quando houve um período de baixa concentração atmosférica de CO₂ (APEL, 1994). A maioria das plantas C₄ tem seu centro de origem em zona tropical, e algumas características fisiológicas dessas plantas C₄ lhes conferem maior potencial produtivo em zona tropical:

Eficiência quântica e atividade fotossintética - As plantas C₄ não apresentam saturação luminosa para a assimilação fotossintética, mesmo com intensidades luminosas máximas do meio dia no verão acima de 2000 mmol quanta.m⁻².s⁻¹, enquanto as C₃ se saturam a intensidades em torno de 600 a 800 mmol quanta.m⁻².s⁻¹ (HALL & RAO, 1994), que representa 1/3 da intensidade luminosa máxima de um dia de verão (Tab. 2). Essa resposta das plantas C₄ permite um maior aproveitamento da energia luminosa disponível em zona tropical, onde existem altas intensidades luminosas durante quase todo o ano. Contudo, sob baixas intensidades luminosas, na sombra, as plantas C₃ apresentam uma taxa fotossintética mais alta do que as C₄ (EDWARDS & WALKER, 1983; HALL & RAO, 1994).

Furbank et al (1990), mostram que plantas C₃ a 30°C necessitam de 18,9 mol quanta/mol de CO₂ fixado, enquanto à temperatura de 20°C necessitam de 15,4. A diminuição da eficiência quântica das plantas C₃ em temperaturas elevadas é devida principalmente ao aumento da fotorrespiração (NOBEL, 1991). Também a diminuição da fotossíntese causada pela temperatura é atribuída à destruição da ultra-estrutura cloroplástica, podendo este efeito ser controlado por reguladores de crescimento (STARCK et al, 1993).

As gramíneas C₄ desenvolvendo-se a 20 ou 30°C necessitam em média de 15,9 mol quanta/mol de CO₂ fixado, e as dicotiledôneas C₄ em média 17,5.

Tabela 2. Respostas de plantas C₃, C₄ e CAM aos fatores ambientais tropicais.

PARÂ- METRO:	via C₃	via C₄	plantas CAM
Eficiência quântica:	apresentam saturação luminosa	não apresentam saturação luminosa	assimilação do CO ₂ noturna
	----- A 30°C: 18,9 A 20°C: 15,4	mol quanta/mol CO ₂ ----- A 20 ou 30°C: gramíneas: 15,9 dicotiledôneas: 17,5	
Atividade fotos- sintética:	12 a 25 <i>Atriplex hortensis</i> : 16,7	----- 25 a 40 <i>Atriplex nummularia</i> : 53,0	----- 2,5 a 7,6
E.U.A.*:	----- 1 a 3	g CO ₂ . kg H ₂ O ⁻¹ ----- 2 a 5	----- 10 a 40
Temp. ótima:	20 a 35°C	30 a 45°C	30 a 45°C
Efeito de altas temp.	aumento da fotorrespiração	não há aumento	não há aumento
E.U.N.*: (% do N foliar)	Rubisco: > 50%	Rubisco: 25% PEP-case: 10%	Rubisco: 25% PEP-case: 10%
Região:	temperada	tropical e árida	árida

Segundo Nobel (1991), Hall & Rao (1994), Norman et al. (1995) e Passioura (1996).

* E.U.A.-Eficiência no uso de água; E.U.N.-Eficiência no uso de nitrogênio.

Essa independência em relação à temperatura e a maior eficiência quântica das plantas C_4 sob altas temperaturas, são devidas à partição de prótons no ciclo Q do complexo citocromo b/f entre o PS II e o PSI, gerando o ATP necessário ao funcionamento do ciclo C_4 . Sem essa opção do ciclo Q não teria sido possível a evolução da síndrome C_4 (FURBANK et al, 1990). A maior eficiência quântica de plantas C_4 em temperaturas mais altas medidas em plantas em pote, diminui bastante ao analisar-se o dossel de plantas no campo (SINCLAIR & HORIE, 1989).

A atividade fotossintética máxima medida em *Atriplex nummularia* foi de $53 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (PHAM THI et al, 1982), e em *Atriplex halimus* foi de 34,7 (PIMENTEL, 1985), ambas plantas C_4 . Já para as plantas C_3 , em *Atriplex hortensis*, foi de 16,7 (PIMENTEL, 1985) e em *Phaseolus vulgaris*, no início da floração, foi de 13,3. Essa taxa máxima no feijoeiro é mantida somente neste período e por pouco tempo. Nos estádio vegetativo, de floração plena e de enchimento de grãos, o valor da atividade fotossintética é menos da metade deste valor (Tab. 3) (PIMENTEL et al, 1995).

Os vegetais CAM apresentam uma assimilação máxima de $7,6 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, porém normalmente a taxa é de 2,5 (BLACK, 1973; NOBEL, 1991). Essas taxas fotossintéticas baixas fazem com que o vegetal funcionando como CAM, tenha um crescimento muito lento. Porém, certas plantas CAM facultativas podem ter uma alta produtividade com acumulação de matéria seca pela via C_3 .

Quanto à fotorrespiração, as plantas C_3 apresentam liberação de CO_2 fotorrespiratório, mas as C_4 e CAM não apresentam (RITCHER, 1993). As plantas C_4 e CAM possuem todo o sistema enzimático do ciclo glicolato-glicerato, porém a atividade das enzimas deste ciclo é muito inferior a das plantas C_3 . A não liberação de CO_2 fotorrespiratório em plantas C_4 é devida à alta concentração de CO_2 na bainha perivascular, diminuindo a atividade oxigenase da rubisco, mas também à alta eficiência da PEP-case no mesófilo, que recupera o CO_2 a ser liberado na bainha perivascular (FURBANK & TAYLOR, 1995). Plantas C_4 , em condições de estresse hídrico, com diminuição da fixação fotossintética de CO_2 e de sua concentração na bainha perivascular, podem apresentar liberação de CO_2 fotorrespiratório (PIMENTEL, 1985; DAI et al., 1993).

Eficiência no uso de água (E.U.A.) - As plantas C_3 têm uma E.U.A. variando de 1 a 3 g de CO_2 fixado. kg^{-1} de H_2O transpirada; nas C_4 essa varia de 2 a 5 e nas CAM de 10 a 40 (NOBEL, 1991). Isso porque as plantas

Tabela 3. Taxa fotossintética (A) e condutância estomática (gs) em *Phaseolus vulgaris* L., genótipo carioca, com 20 (estádio vegetativo), 39 (estádio de pré-floração), 48 (estádio de floração) and 60 (estádio de enchimento do grão) dias após o plantio (DAP), no primeiro (mais velho) trifolíolo (1), no terceiro (3) e no quinto (5).

Estádio	folha	A ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
Vegetativo (20 DAP)	1	0,18a	0,041a
	3	4,44b	0,066ab
	5	6,59c	0,131b
Pré-floração (39 DAP)	1	5,27a	0,019a
	3	13,29c	0,150c
	5	11,99b	0,095b
Floração (46 DAP)	1	1,13a	0,03a
	3	5,65b	0,07b
	5	5,01b	0,056b
Enchimento do grão (60 DAP)	1	0,59a	0,019a
	3	2,57b	0,050b
	5	2,96b	0,049b

Na coluna, para folha em cada idade, letras diferentes são significativas a 0.01%.

C_4 apresentam uma condutância mesofílica superior a das C_3 devido a maior taxa de carboxilação, maior afinidade pelo substrato e ausência de fotorrespiração (Tab. 2) (LUDLOW, 1976; FURBANK & TAYLOR, 1995). Com essa maior condutância mesofílica, as plantas C_4 podem ter menor condutância estomática, economizando água. Já as plantas CAM, mantendo os estômatos abertos à noite quando a transpiração é mínima, e fechados durante o dia, quando a transpiração é máxima, terão maior economia de água (NOBEL, 1991). A tolerância à salinidade também é uma característica comum entre as plantas C_4 , o que leva essas plantas a sobreviverem em ambientes mais secos e salinos (HALL & RAO, 1994).

Entretanto, estudos comparativos em campo com trigo (C_3) e milho (C_4), mostraram que a eficiência no uso de água na cultura dessas plantas é semelhante, pois entram em jogo outros fatores fisiológicos, como o maior controle estomático ou o ajustamento osmótico, mecanismos de adaptação à seca, mais desenvolvidos no trigo. Na cultura do milho, a assimilação fotossintética é menor, assim como o seu rendimento quântico, pois o seu dossel de plantas mais esperso absorve menos radiação fotossinteticamente ativa do que o dossel mais fechado do trigo (BALDOCCHI, 1994).

Adaptação a temperaturas altas - As plantas C_4 e CAM desenvolvem-se melhor e apresentam máxima atividade fotossintética com temperaturas de 30 a 45°C. Já em plantas C_3 , a fotossíntese e o crescimento máximos ocorrem entre 20 e 35°C (LÜTTIGE et al, 1996). Tal resposta pode ser devida à atividade oxigenase da rubisco, pois a liberação de CO_2 fotorrespiratório é baixa em plantas C_4 e, nas plantas C_3 torna-se proporcionalmente maior com o aumento da temperatura, reduzindo então a assimilação de CO_2 nessas últimas (NOBEL, 1991). Essa característica das plantas C_4 e CAM confere-lhes a capacidade de desenvolverem-se melhor em ambientes de temperaturas altas, apesar de haverem plantas C_3 com mecanismos de adaptação às altas temperatura independentemente da via fotossintética, como será visto adiante.

Eficiência fotossintética no uso de nitrogênio - As plantas C_4 e principalmente as CAM utilizam menos nitrogênio para a síntese de suas enzimas de carboxilação do que as C_3 e são, por isso, menos dependentes de alta disponibilidade deste elemento para produzir matéria seca (MARSCHNER, 1995). No máximo 35% do N que chegam a folha é gasto para a síntese dessas enzimas nas plantas utilizando a via C_4 , enquanto mais de 50% deste N é gasto para a síntese da rubisco em plantas C_3 (Tab.2) (SINCLAIR & HORIE, 1989). Sendo assim há maior disponibilidade de N

para o crescimento em outros órgãos nas plantas C₄. Nas plantas C₃, a enzima rubisco funciona como um “pool” de reserva de nitrogênio, e uma diminuição da atividade da proteína não altera a taxa fotossintética, pois a perda de proteína é compensada pelo aumento da ativação da enzima (LEEGOOD, 1996).

As plantas C₄, assim como as CAM, instalam-se mais facilmente em terrenos com baixa disponibilidade de nitrogênio (queimados por exemplo), pois podem manter uma atividade fotossintética neste ambiente pobre em nitrogênio, sendo então consideradas plantas pioneiras. SAXENA & RAMAKRISHNAM (1983) mostram que a instalação da vegetação sobre um terreno queimado se faz, nos primeiros anos por plantas C₄, e somente 4 a 6 anos após, com o aumento de matéria orgânica adicionada ao solo pelas espécies anteriores, as C₃ dominam.

1.C.3. Adaptação de plantas C₃, C₄ e CAM aos ambientes tropicais

Apesar de serem plantas pioneiras, não se pode dizer que as plantas C₄ sejam mais tolerantes à seca do que plantas C₃. Somente o metabolismo CAM pode ser considerado como uma adaptação à seca (HATCH, 1976; LAWLOR, 1993).

Os mecanismos fisiológicos que conferem adaptação à seca, à salinidade, assim como a aclimatação às altas temperaturas não estão relacionados com a via fotossintética de assimilação de CO₂. Citamos os exemplos da beterraba, do trigo e da algaroba, como plantas C₃, que são mais adaptadas à seca do que o milho, que é uma C₄ (PIMENTEL & ROSSIELO, 1995).

Portanto, podemos classificar genericamente, pois existem exceções, os vegetais de clima tropical em:

Plantas C₄ - com alta taxa fotossintética por unidade de área e de crescimento da cultura, podendo exceder 0,5 ton.ha⁻¹.dia⁻¹ para os cereais C₄; sem saturação luminosa da fotossíntese, acima de 2000 mmol.m⁻².s⁻¹, tampouco apresentando liberação de CO₂ fotorrespiratório; com temperatura ótima para a fotossíntese de 30 a 45°C; com alta eficiência no uso de água e nitrogênio; e cujas sementes não germinam em temperaturas abaixo de 12°C, como é o caso do milho, sorgo e milheto (NORMAN et al., 1995).

Devemos salientar contudo que a maior eficiência no uso de água das plantas C₄ nem sempre assegura uma maior produtividade. As plantas C₄ são capazes de produzir mais, durante os meses secos, embora essa superioridade

possa ser contrabalançada pela maior produção anual de certas C_3 antes do período quente e seco. A maior área foliar de plantas C_3 também compensa, às vezes, sua menor taxa fotossintética (FISHER & TURNER, 1978). Além disso, a maior economia de água das plantas C_4 não permite afirmar que essas plantas sejam mais tolerantes aos baixos potenciais hídrico de folha (LUDLOW, 1976).

Plantas CAM - com baixa taxa fotossintética por unidade de área e de crescimento quando funcionando como CAM. Mas, no caso daquelas CAM facultativas, como *Ananas comosus*, *Opuntia ficusindica* e *Agave sisalana*, podem atingir produtividade acima de $45 \text{ ton.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$ quando assimilando carbono durante o dia, na via C_3 . Essa média de produção está acima dos valores de 30 a $40 \text{ ton.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$, obtidos em culturas como o trigo (PUGNAIRE et al, 1993). As plantas CAM obrigatórias têm alto conteúdo hídrico, baixa razão superfície/volume e baixa frequência estomática (OSMOND et al., 1982), desenvolvem-se em regiões áridas, principalmente devido à alta eficiência no uso de água (HALL & RAO, 1994).

Plantas C_3 - com baixa taxa fotossintética por unidade de área e de crescimento da cultura, podendo atingir $0,2$ a $0,4 \text{ ton.ha}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, durante períodos curtos, para as leguminosas, que são plantas C_3 ; com saturação luminosa da fotossíntese com 600 a $800 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; apresentando liberação de CO_2 fotorrespiratório, aumentado pela temperatura; com temperatura ótima para a fotossíntese entre 20 e 35°C , como é o caso de arroz e soja, e com baixa eficiência no uso de água e nitrogênio (NORMAN et al., 1995).

Os efeitos dos fatores climáticos no crescimento e no desenvolvimento, assim como a partição de carbono entre os órgãos, são importantes para explicar diferenças nas taxas de crescimento da cultura (Tab. 4). Por exemplo, a taxa de crescimento da cultura da cana-de-açúcar é seis vezes superior à taxa do capim napier, ambas plantas C_4 , com estrutura do dossel semelhantes entre si (NORMAN et al., 1995).

A taxa de assimilação fotossintética por unidade de área é superior nas plantas C_4 (LAWLOR, 1995), porém deve-se ressaltar que uma planta C_3 com maior área foliar, terá uma alta produção de fotoassimilados. Isto é visto no estudo de SLATYER (1970), com *Atriplex spongiosa*, planta C_4 , e *Atriplex hastata*, planta C_3 , onde a planta C_4 com maior taxa de assimilação fotossintética no início de seu desenvolvimento, aloca mais C em estruturas não fotossintetizantes, e a planta C_3 que aloca em área foliar tem, então, maior produção de fotoassimilados depois de 3 semanas de desenvolvimento.

TABELA 4. Valores máximos de taxa de crescimento de culturas (TCC) e de produtividade de algumas plantas em C₃, C₄ e CAM.

Valores máximos da taxa de crescimento de algumas culturas (TCC)* (em g. m⁻² solo. dia⁻¹):	Produtividades máximas de algumas culturas (em kg. ha⁻¹. n° de dias⁻¹):
- <i>Helianthus annuus</i> (C ₃): 68	- <i>Saccharum officinarum</i> (C ₄): 250.000/360 dias
- <i>Pennisetum purpureum</i> (C ₄): 60	- <i>Solanum tuberosum</i> (C ₃): 95.000/90dias
- <i>Agrostemma githago</i> (C ₃): 57	- <i>Beta vulgaris</i> (C ₃): 130.000/180 dias
- <i>Orysa sativa</i> (C ₃): 55	- <i>Pennisetum purpureum</i> (C ₄): 85.000/365 dias
- <i>Zea mays</i> (C ₄): 52	- <i>Manihot esculenta</i> (C ₃): 41.000/365 dias
- <i>Sorghum vulgare</i> (C ₄): 51	- <i>Sorghum vulgare</i> (C ₄): 16.000/120 dias
- <i>Saccharum officinarum</i> (C ₄): 38	- <i>Zea mays</i> (C ₄): 16.000/130dias
- <i>Solanum tuberosum</i> (C ₃): 37	- <i>Orysa sativa</i> (C ₃): 8.000/140 dias
- <i>Glycine max</i> (C ₃): 17	- <i>Pennisetum glaucum</i> (C ₄): 4.000/100 dias
	- <i>Phaseolus vulgaris</i> (C ₃): 5.000/110 dias
* valores mantidos por curto tempo. Dados de Evans (1975).	Dados de Osmond et al. (1982) e Norman et al (1995).

Além dessa ressalva, devemos lembrar que certas plantas C_3 podem apresentar também uma atividade fotossintética equivalente a das plantas C_4 , como é o caso *Camissonia claviformis*, com uma assimilação de $59 \text{ mmolCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, desenvolvendo-se em temperaturas acima de 40°C , e tampouco se saturando com as intensidades luminosas do Vale da Morte, na Califórnia (RICHARD & TEERI, 1984). A espécie *Medicago sativa*, também C_3 , atinge uma taxa fotossintética de $54 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (HATCH, 1976).

Portanto, a exploração agrícola de uma planta com a via fotossintética C_4 , não leva necessariamente, a uma alta produtividade por área e por tempo, comparando-se a algumas plantas C_3 . Por exemplo, o sorgo ou espécies de *Pennisetum*, com altas taxas de crescimento de cultura (TCC), não produzem mais energia para a alimentação do que a batata ou a mandioca na mesma área, durante um ano agrícola (Tab. 4). A cana-de-açúcar (planta C_4) pode produzir até 250 ton. de colmos. ha^{-1} , porém em pelo menos um ano agrícola, enquanto a batata (planta C_3) produz até 95 ton. ha^{-1} em 3 meses, e a beterraba açucareira (planta C_3) até 135 ton. ha^{-1} , no mesmo tempo (NORMAN et al, 1995). Nem mesmo os valores máximos de taxa de crescimento de cultura, em gramas de matéria seca. m^{-2} de solo. dia^{-1} , podem ser atribuídos exclusivamente às plantas C_4 , pois EVANS (1975) mostra que *Helianthus annuus* (C_3) pode atingir valores de 68, *Pennisetum purpureum* (C_4) de 60, *Oryza sativa* (C_3) de 55, *Zea mays* (C_4) de 52, *Saccharum officinarum* (C_4) de 38, *Ananas comosus*, CAM facultativa funcionando na via C_3 , de 28 e *Glycine max* (C_3) de 17. As leguminosas têm baixa atividade fotossintética e baixa taxa de crescimento de cultura devido à baixa condutância mesofilica, segundo VON CAEMMERER e EVANS (1991). Os valores máximos de taxa de crescimento de cultura citados são mantidos durante alguns dias, decrescendo posteriormente.

Deve-se considerar, finalmente, que a concentração de CO_2 , na atmosfera, aumentou de 270 para $355 \text{ } \mu\text{L.L}^{-1}$ em apenas um século, e está aumentando atualmente $1,8 \text{ } \mu\text{L.L}^{-1}$ por ano (HALL & RAO, 1994). Este enriquecimento em CO_2 da atmosfera deverá beneficiar a fotossíntese de plantas C_3 , diminuindo a importância da fotorrespiração (SAGE et al, 1990), assim como o seu uso de água e de nutrientes, sem contudo afetar a atividade fotossintética das C_4 . Porém, a fotossíntese em plantas C_3 sob alta concentração CO_2 é limitada pelo transporte de electrons e regeneração de Pi e da RuBP (MAKINO, 1994). O aumento no teor de gases na atmosfera aumentará também o efeito estufa, aquecendo a atmosfera; e não podemos prever como este aumento de temperatura do ar vai afetar a distribuição de chuvas e, conseqüentemente, a produtividade agrícola, principalmente na zona tropical.

Capítulo 2

RELAÇÕES FONTE/DRENO

Em uma alga verde unicelular, cada célula é capaz de fixar carbono em presença de luz, pela fotossíntese, absorver nutrientes, promover crescimento em tamanho e reproduzir. Com a evolução de vegetais superiores terrestres, em alguns casos com mais de 100 metros de altura, foi necessária uma divisão de funções entre diferentes células, tecidos e órgãos, além do desenvolvimento de um sistema de controle e transporte entre os tecidos para a interconexão e coordenação dos trabalhos realizados em diferentes tecidos. A clorofila é espacialmente separada do sistema de absorção de nutrientes e dos órgãos reprodutivos, porém cada célula ou tecido faz parte do sistema integrado do vegetal, visando à reprodução da espécie (WARDLAW, 1990).

O acúmulo de matéria seca no órgão de interesse econômico é controlado pela troca de metabólitos entre os tecidos fornecedores de fotoassimilados (a fonte) e o órgão colhido (o dreno colhido). Portanto, são considerados fontes os órgãos ou tecidos que exportam assimilados, sintetizando-os (tecidos verdes), ou estocando-os anteriormente (como dreno reversível), e cedendo-os posteriormente. Já os drenos são os órgãos ou tecidos que utilizam (drenos em crescimento), ou armazenam fotoassimilados (drenos de reserva). Esses drenos podem ser irreversíveis ou permanentes, como os meristemas vegetativos de parte aérea ou raiz; e reversíveis, como o meristema intercalar de folhas, de flores e de inflorescências, os entrenós de cana-de-açúcar, o tronco de árvores, os tecidos de reserva de frutos, de sementes, de tubérculos, de bulbos e de bulbilhos.

No Brasil, desde as décadas de 50 e 60, estudos sobre a ecofisiologia do crescimento e da floração no cafeeiro, já eram desenvolvidos por ALVIM (1958), FRANCO (1965) e MAESTRI & BARROS (1977), assim como estudos sobre a translocação e partição de fotoassimilados em *Cyperus*, no período reprodutivo, foram realizados por MAGALHÃES et al. (1968).

É importante lembrar que o vegetal acumula matéria seca, principalmente sob a forma de carboidratos, mas também como proteínas e lipídeos, para assegurar o suprimento de esqueletos de carbono e energia química para o seu crescimento ou manutenção (quando não há produção de fotoassimilatos, por exemplo à noite, ou em condições de estresse ambiental). Os precursores de macromoléculas, que são o ácido pirúvico da glicólise, os compostos do desvio das pentoses, o acetilCoA e os ácidos orgânicos do ciclo de Krebs (Fig. 6) são usados para a síntese de outros compostos necessários nos processos de

crescimento e na manutenção dos tecidos. A energia química para estes processos endergônicos, é fornecida pela hidrólise do ATP e o poder redutor (elétrons), necessário nas reações de oxiredução, é fornecido pelo NADPH (doador de 2 elétrons, para o anabolismo) ou NADH (principal doador de elétrons do catabolismo) (STRYER, 1995).

O processo metabólico da respiração (glicólise, desvio das pentoses, ciclo de Krebs e cadeia respiratória mitocondrial (Fig. 6) é mantido constantemente em um organismo vivo. Toda célula respira continuamente, noite (consumindo as reservas produzidas durante o dia) e dia. O consumo de carbono pela respiração pode corresponder a mais de 70% do ganho diário de carbono pela fotossíntese em tecidos jovens em crescimento vegetativo (VAN DER WERF, 1996). Para facilitar a compreensão da alocação do carbono, para produção de novos compostos no crescimento celular, ou para manter os tecidos vivos, portanto gastando energia, classificamos a respiração dita “obscura” em respiração de “crescimento” (produção de compostos para a síntese) ou de “manutenção” (energia para manter os processos fisiológicos), porém as vias bioquímicas são sempre as mesmas. A respiração, consumindo carboidratos ($[(CH_2O)_n = CO_2 + H_2O + ATP + NADPH]$), pode ter carbono desviado para os outros processos de síntese, ou ter todo o seu carbono oxidado para produzir o máximo de energia contida nos carboidratos assim “queimados” (BRYCE & THORNTON, 1996). Nos drenos, os fotoassimilados produzidos em outros tecidos, são importados para a respiração de manutenção e crescimento deste órgão.

A taxa respiratória é dependente do requerimento de ATP e NADH pela célula e, na mitocôndria, a exemplo do que ocorre em cloroplastos, o fluxo de elétrons pode ser desviado da cadeia respiratória mitocondrial para uma via alternativa, sendo estes cedidos para uma flavoproteína que vai promover a redução de $1/2O_2$ a H_2O , com menor produção de ATP (Fig. 6). Tal via alternativa vai consumir O_2 e NADH, o que é desejável para dissipação de excesso de energia sob altas temperaturas e intensidades luminosas, e pode variar de 14 a 80% da respiração (RITCHER, 1993).

O transporte de açúcares pelo floema pode ocorrer entre órgãos distantes, mas normalmente um dreno é suprido de fotoassimilados pelas fontes próximas e, as relações fonte/dreno da planta, são continuamente modificadas com o desenvolvimento do vegetal. Com o desenvolvimento de novas folhas jovens, a atividade fotossintética das velhas decresce, entrando em senescência para retranslocar principalmente nitrogênio para as mais novas. As folhas mais apicais suprem as gemas apicais vegetativas; as folhas centrais, os ramos, o ápice e raízes; e as basais, suprem principalmente as raízes (WARDLAW, 1990).

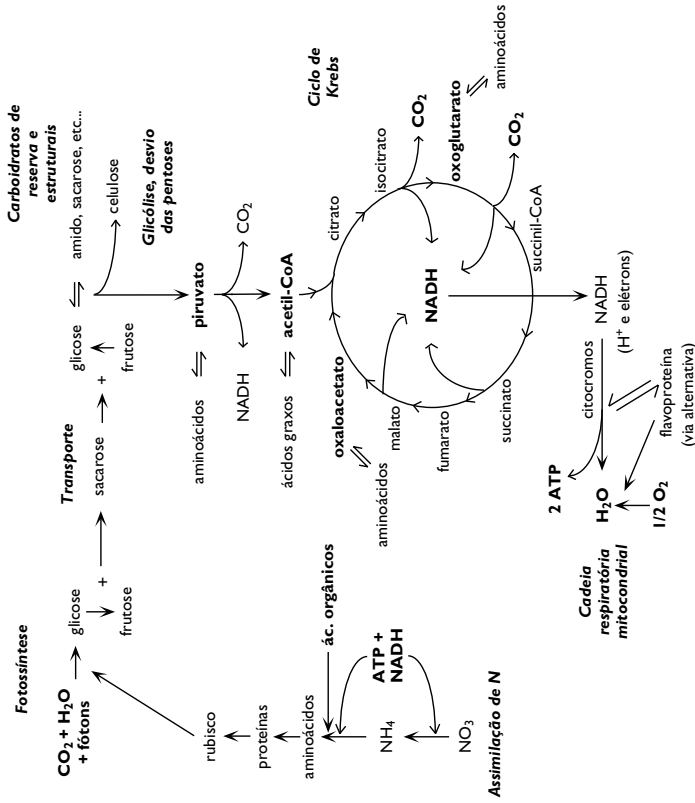


FIGURA 6. Vias metabólicas de anabolismo e catabolismo de carboidratos e sua interação com o metabolismo de proteínas e de lipídeos. Adaptado de Leegood (1996) e Martschner (1995).

Para o estudo das relações fonte/dreno, para efeito didático, considerar-se-á a partição do carbono, a distribuição destes compostos em matéria seca nos diferentes tecidos e órgãos. A alocação do carbono será considerada como sendo a descrição das vias metabólicas dos compostos de carbono, nos diferentes tecidos (BRYCE & THORNTON, 1996).

2.A. PARTIÇÃO DE CARBONO NA PLANTA (ASPECTOS AGRONÔMICOS)

A produtividade é afetada por características morfológicas e fisiológicas da fonte e do dreno. Toda produção de fitomassa depende da atividade fotossintética da fonte, porém a assimilação do CO₂ é apenas um dos muitos fatores que influenciam o crescimento e desenvolvimento vegetal (FOYER & GALTIER, 1996).

Existe uma regulação dos produtos finais e do tamanho do dreno sobre a atividade da fonte. Se a capacidade de acumulação de carboidratos no dreno é pequena, ocorrerá acumulação dos carboidratos de transporte na fonte, reduzindo a atividade fotossintética dessa. No caso inverso, com aumento do tamanho do dreno, aumenta a atividade fotossintética da fonte. Contudo, o aumento exagerado do tamanho do dreno pode causar colapso na fonte por inibição dos fotossistemas e inibição da síntese dos componentes fotossintéticos. O transporte de carboidratos, via floema, só é limitante em condições extremas de estresse ambiental (LAWLOR, 1993).

Em termos de balanço de carbono, o caminho para aumento de produtividade pode ser a eficiência da produção de carboidratos na fonte, ou a eficiência de acumulação destes no dreno, preferencialmente na associação dos dois processos. Cultivares de alta produtividade são aquelas que têm sucesso na maximização da interceptação e conversão da energia solar pelas folhas, sem um excessivo investimento em matéria seca vegetativa não colhida, associado ao acúmulo de carboidratos nos órgãos colhidos (SCHRADER, 1985). O índice de colheita (matéria seca no órgão colhido/ matéria seca total da planta) é uma maneira clássica de estabelecer-se a partição de carbono nos órgãos colhidos, e já proporcionou avanços em termos de produtividade (LAWLOR, 1993).

Segundo as propostas de MOCK & PEARCE (1975) e PATERNIANI (1990), o ideotipo do milho para máxima produtividade seria:

a) folhas acima da espiga, firmes e orientadas verticalmente. Abaixo da espiga, podem ser horizontais; b) máxima eficiência fotossintética; c) eficiente conversão de fotoassimilados em peso de grão; d) curto intervalo entre a

floração masculina (liberação do pólen) e feminina (emergência dos estigmas); e) prolificidade de espigas por colmo; f) pendão masculino pequeno; g) insensibilidade ao fotoperíodo; h) tolerância ao frio na germinação e fase de plântula, que poderia ser substituído para clima tropical por tolerância ao calor e, acrescentando, tolerância ao excesso e falta de água; i) maior período possível de enchimento do grão; e j) lenta senescência de folhas. Além dessas características, segundo DUNCAN & BALIGAR (1991), um vegetal, sobretudo em clima tropical, deveria ter também alta eficiência no uso de nutrientes. E para tanto, um sistema radicular eficiente na aquisição destes e na aquisição de água, seria imprescindível. Em clima tropical, o vegetal deve investir no sistema radicular (órgão não colhido para a maioria) para ter essa eficiência.

2.A.1. Características morfo-fisiológicas da fonte

As folhas de maior importância para a produção dos drenos colhidos são aquelas próximas a estes. Em uma frutífera como a macieira, são necessárias cerca de 15 folhas próximas ao fruto para o enchimento deste. No milho, a principal fonte de fornecimento de fotoassimilados para a espiga é a folha onde essa espiga se apóia. Nessa planta, as partes verdes da espiga também contribuem para o seu enchimento (WARDLAW, 1990). Para a vagem de uma leguminosa, que também contribui para o seu enchimento, o trifolíolo que se desenvolve junto a ela terá a maior participação para o seu enchimento (DAVIES, 1995). Em trigo e arroz, a chamada folha bandeira tem uma importância enorme para o fornecimento de fotoassimilados para a panícula (FAGERIA, 1992). No trigo de barba, a arista desenvolvida faz também fotossíntese. Essas características da fonte que afetam a produtividade da cultura, levaram HSIAO (1990) a ressaltar as seguintes características importantes para a fonte:

2.A.1.1. Velocidade de desenvolvimento da área foliar (específica) do dossel e da área foliar fotossinteticamente efetiva (tamanho da fonte)

Uma grande área foliar para uma planta de clima tropical, além de permitir alta interceptação de energia luminosa, vai significar também uma grande superfície de transpiração, o que é indesejável. O melhoramento vegetal tradicional sempre selecionou plantas com alta área foliar, pois em clima

temperado a luminosidade é um fator limitante. Isto dificilmente ocorrerá em clima tropical, principalmente para plantas C_3 , que se saturam a baixas intensidades luminosas, como visto no 1º capítulo. Energia luminosa não é fator limitante para a agricultura tropical, portanto, segundo SINCLAIR & HORIE (1989), devemos selecionar plantas com maior área específica de folha, isto é, plantas com maior peso de folha por unidade de área. A atividade fotossintética é função do número de cloroplastos, sejam eles dispostos horizontalmente (maior área foliar), sejam dispostos verticalmente (maior espessura e área específica). Uma folha mais espessa e menos larga vai manter alta atividade fotossintética por unidade de área (intensidade da fonte), com menor superfície de transpiração, o que é desejável em clima tropical. Em arroz, a seleção de plantas com folhas mais curtas, eretas e espessas levou ao aumento da densidade de plantas e conseqüente aumento de produção (FAGERIA, 1984).

A área foliar fotossinteticamente efetiva é extremamente importante. Folhas que não sejam iluminadas adequadamente, por serem sombreadas pelas folhas superiores, serão mais um dreno ao invés de fonte. Em gramíneas, como o arroz, a seleção de plantas com folhas eretas (seleção para lígula e aurícula bem desenvolvidas), permitindo maior penetração de luz no dossel, trouxe aumento de produtividade, o que ainda não se conseguiu com o trigo, cevada e o milho, que têm baixo índice de área foliar (WARDLAW, 1990).

2.A.1.2. Idade da folha, duração da área foliar (duração da fonte) e a senescência

A folha, em seus estádios iniciais de desenvolvimento, é considerada um tecido heterotrófico. Na própria folha, a zona de crescimento, em geral na base dessa, funciona como dreno para as outras partes já desenvolvidas e somente o excedente é exportado para outros órgãos (WARDLAW, 1990). Em manga, enquanto a folha tem coloração marron, com alto teor de antocianina, o teor de rubisco e a atividade fotossintética são baixos. Quando a planta atinge a maturação, o teor de antocianina decresce e os teores de clorofila e amido aumentam (a folha fica verde) com o aumento do teor de rubisco e da taxa fotossintética (NII et al., 1995).

Em folhas de dicotiledôneas, somente ao atingir de 30 a 60% de sua área foliar máxima, ela passa a ser autotrófica e exportadora de fotoassimilados. Em gramíneas, como a cana-de-açúcar, a importação de carboidratos pelo

floema se mantém até a folha atingir 90% de sua área foliar máxima. A transição na folha, de dreno para fonte, em plantas cujo principal carboidrato de transporte é a sacarose, está associada a um aumento da atividade da sacarose-P sintase, enzima para a síntese de sacarose, e decréscimo da atividade da invertase ácida e sacarose sintase, enzimas de hidrólise da sacarose que chega pelo floema (MARSCHNER, 1995). Em maçã, o álcool sorbitol é a forma dominante de transporte, e a maturação da folha está associada a um aumento da enzima de síntese de sorbitol, a aldolase-6-P redutase. Na folha, após atingir o tamanho máximo, inicia-se o processo de senescência, com diminuição da fotossíntese e exportação de compostos principalmente nitrogenados. Enzimas hidrolíticas, seqüestradas no vacúolo, são liberadas para o citoplasma, iniciando a hidrólise proteica, começando então, o processo de perda da funcionalidade membranar e degeneração da integridade celular, em maior ou menor intensidade, dependendo do vegetal (VIERSTRA, 1996). O declínio do teor de clorofila, causando clorose, é um sintoma visível da senescência. A composição do floema muda, com diminuição de açúcares e aumento de compostos nitrogenados de baixo peso molecular e de nutrientes minerais móveis (PELL & DANN, 1990). Em plantas de milho, trigo e feijão, a maior duração de área foliar é desejável no melhoramento vegetal para aumento de produtividade (MARSCHNER, 1995).

A duração do período autotrófico da folha é primordial para obtenção de máxima produtividade, pois se no momento do desenvolvimento dos órgãos de interesse a fonte estiver em processo de senescência, o enchimento desses órgãos ficará comprometido. Porém, o controle genético e hormonal de tal processo é pouco conhecido (BUCHANAN-WOLLASTON, 1997). A habilidade da folha em exportar fotoassimilados, no entanto, é regida pelo balanço entre a produção e o consumo de carbono nesta e nos drenos existentes. Se o consumo de carbono for baixo, há um diminuição da atividade fotossintética na fonte. A acumulação de amido no grão e conseqüente produtividade de trigo são também dependentes do número de células e de plastídeos na folha e no endosperma do grão, assim como em milho e soja (MILBURN & KALLARACKAL, 1989).

Normalmente o potencial fotossintético de uma folha não é totalmente utilizado, e a remoção de algumas folhas-fonte aumenta a fotossíntese nas restantes. O declínio, entretanto, da taxa fotossintética no período da tarde, é a expressão de uma limitação do dreno devido à acumulação de açúcares, assim como do fechamento estomático. Em condições de alta luminosidade

pode ocorrer fotoinibição, a menos que hajam drenos temporários, como as bainhas e ramos de cereais. Quando a demanda por fotoassimilados é alta, há uma diminuição de ácido abscísico nas folhas, levando à máxima abertura estomática (como será visto adiante). Com a grande abertura estomática, aumenta a transpiração e a síntese de citocininas nas raízes, que é transportada para as folhas, impedindo a senescência foliar (também será visto adiante). Logo, os fitormônios também estão envolvidos no controle da senescência (PELL & DANN, 1990).

O processo de senescência se inicia nos cloroplastos, com degradação dos tilacóides (Fig. 7), e no retículo endoplasmático. Neste processo, há também hidrólise de macromoléculas, dentre estas as clorofilas e as proteínas foliares, formadas em grande parte pela rubisco, para retranslocar aminoácidos para outros órgãos em desenvolvimento, em uma estratégia de economia de nutrientes. Na senescência, a hidrólise de proteínas pode ser devida à síntese “de novo” de enzimas proteolíticas ou ativação de enzimas já existentes devido à diminuição do efeito de inibidores (VIERSTRA, 1996), e pela expressão de genes associados à senescência (BUCHANAN-WOLLASTON, 1997). A perda da integridade das membranas intracelulares, como os tilacóides, se dá pela ação de enzimas de degradação de lipídeos, como a fosfolipase D, a fosfatidase fosfatase e a acil hidrolase, nas formas citossólicas e membranares, produzindo ácidos graxos, que são o substrato das lipoxigenases, e produzindo hidroperóxido de ácido graxo. As espécies ativas de oxigênio, como superóxido, peróxido e oxidrilo, causam danos ao metabolismo, aumentando a degradação de membranas e de macromoléculas, como ácidos nucleicos, polissacarídeos e proteínas. Em condições normais, enzimas desintoxicadoras de oxidação pelo oxigênio, como a superóxido dismutase, a catalase, as peroxidases e a glutatona redutase, eliminariam estes radicais livres, evitando a oxidação, porém durante a senescência, a atividade dessas enzimas diminui. A manutenção da atividade protetora dessas enzimas desintoxicadoras pela regulação de genes que controlam as suas atividades, principalmente em cloroplastos, poderá retardar a senescência e os efeitos dos fatores ambientais sobre as membranas citoplasmáticas (PEÑARRUBIA & MORENO, 1994).

Porém, a senescência é um processo importante para a remobilização de N, P e de outros minerais, de folhas velhas para as folhas mais jovens e finalmente para o grão ou outro dreno de reserva e propagação (BUCHANAN-WOLLASTON, 1997). A eficiência de tal remobilização será vital para os vegetais em condições de baixa disponibilidade de nutrientes, fato comum na agricultura tropical.

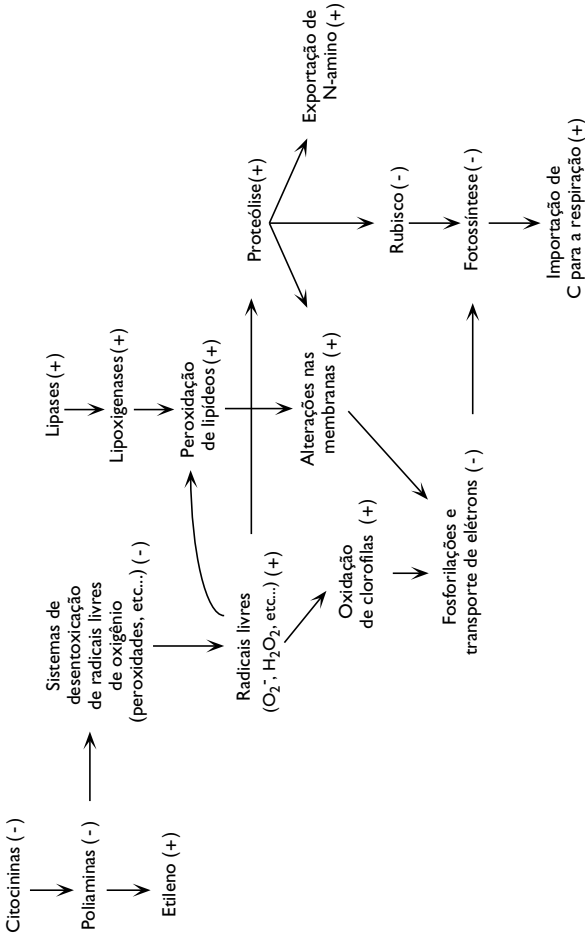


FIGURA 7. Processos de senescência, segundo Pell & Dann (1990): (+) atividade aumenta e (-) atividade diminui; ocorre diminuição dos teores de citocininas e poliaminas; aumento na produção de etileno; diminuição da atividade de enzimas desoxidadoras, como peroxidases; aumento da produção de espécies ativas de oxigênio, que causarão a peroxidação de lipídeos, oxidação de clorofilas e alterações nas membranas; aumento da atividade de enzimas hidrolíticas como as lipases, as lipoxigenases e as proteases; hidrólise proteica; e diminuição da fotossíntese. Com a hidrólise de macromoléculas, se iniciará a exportação de aminoácidos, compostos fosfatados e algum C.

2.A.2. Características morfo-fisiológicas do dreno

Quando se inicia o desenvolvimento do fruto e de sementes, há uma dominância do crescimento destes órgãos sobre os órgãos vegetativos (parte aérea e raiz), enquanto as flores ainda são pobres competidores. Alguns tecidos de reserva subterrâneos também são dominantes. Logo, em plantas perenes de produção anual, como é o caso do café e de frutíferas, uma frutificação pesada em um ano vai reduzir o crescimento vegetativo (novas folhas) para o ano seguinte, e resultar em baixa frutificação (WARDLAW, 1990). O bom plantador de café fica atento à produção de novas folhas e procura não danificá-las durante a colheita. Em árvores, alguns estudos já são feitos com a aplicação de retardadores de crescimento (herbicidas) em anos de alta produção de folhagem, o que reduz as reservas no tronco, diminuindo a frutificação. Com menor frutificação, a árvore produz jovens folhas que garantirão uma produtividade boa, sem excessos, no ano seguinte (BORY, G., comunicação pessoal).

Algumas práticas de manejo de certas culturas são uma interferência direta nas relações fonte/dreno. Por exemplo, com frutíferas, o “raleio” dos primeiros frutos vai permitir ainda um desenvolvimento vegetativo, e os frutos produzidos, depois, em menor número, serão de maior tamanho, característica desejável para a comercialização. A “capação” no tomateiro, que é a eliminação da gema vegetativa terminal, vai diminuir o tamanho da planta e o número de frutos, que serão maiores (WARDLAW, 1990).

Para as características do dreno, HSIAO (1990) sugere as seguintes características:

2.A.2.1. Tamanho e número de drenos

Um dreno a ser priorizado em clima tropical é o sistema radicular, pois água e nutrientes são fatores limitantes e podem afetar drasticamente o comportamento da fonte e do dreno a ser colhido, fato menos evidente em clima temperado, pois a evapotranspiração em geral é menor. Por isto, o melhoramento vegetal tradicional, durante a revolução verde nos anos 50 e 60, não buscou plantas com o sistema radicular muito desenvolvido, pois nem água nem nutrientes eram, na maioria dos cultivos, limitantes. Hoje em dia tal pensamento já se modificou mesmo em relação ao clima temperado (SCHRADER, 1985), buscando-se plantas mais eficientes no uso de nutrientes (DUNCAN & BALIGAR, 1991).

Em clima tropical, no entanto, grande parte da agricultura para a produção de alimentos é feita com baixa tecnologia, em regiões de alta evapotranspiração, sem irrigação e, visto o alto custo da aplicação de fertilizantes, conduzida com baixa disponibilidade de nutrientes (NORMAN et al., 1995). Portanto, a seleção de plantas com sistema radicular bem desenvolvido, para profundidade e área radicular, apesar de não ser um órgão colhido para a maioria das culturas, permitirá aumentos de produtividade (PUGNAIRE et al., 1994). HENDRIX (1994) propõe que 44% do carbono fixado pela fotossíntese vão para a raiz, com 1/4 desse valor utilizado no crescimento, e o restante na respiração de manutenção. O mesmo autor afirma que para plantas em simbiose com o *Rhizobium*, pelo menos 12% dos fotossintatos produzidos pela planta são gastos na respiração e crescimento dos nódulos, assim como em plantas micorrizadas, 5 a 10% destes fotossintatos são usados pelo fungo. Estes gastos com a raiz, assim como na simbiose, são vantajosos para a planta de clima tropical devido à carência de nitrogênio, que será assimilado pelo sistema radicular mais eficiente e/ou pela simbiose com o *Rhizobium*. Da mesma forma, a associação com fungos micorrízicos trará benefícios ao aumento do volume radicular e conseqüente absorção de água e fósforo, ambos limitantes em solos tropicais. Portanto, este gasto de energia em um órgão não colhido trará vantagens para a eficiência no uso de água, nitrogênio e fósforo, que são limitantes na agricultura tropical (DUNCAN & BALIGAR, 1990).

Tendo em vista a maior probabilidade de ocorrência de temperaturas altas e falta de água em clima tropical, um vegetal que possua uma floração e frutificação mais longas, indeterminadas, terá mais chances de produzir um maior número de drenos reprodutivos, como a prolificidade do milho, com mais de uma espiga aproveitável por colmo, ou a soja, que comparada ao feijão, apresenta um período de floração e produção de vagens mais longo. Havendo um estresse ambiental durante uma parte do período de floração e de frutificação, ainda existem chances de que esse estresse termine antes do final da produção dos drenos (WARDLAW, 1990). Além dessa vantagem, o milho prolífero é mais eficiente no uso de N do que o milho não prolífero (CLARK, 1991).

Plantas com o ideotipo proposto por MOCK & PEARCE (1975) e PATERNIANI (1990), em geral terão menor potencial de produção do que o ideotipo tradicional, com grande porte de parte aérea e espiga. O primeiro teria uma característica de estabilidade de produção, produzindo menos que outros em condições favoráveis, porém mantendo uma certa produção

quando em condições desfavoráveis. O ideotipo com estabilidade de produção, deve gerar variedades recomendadas para a agricultura de baixa tecnologia, sem irrigação e com baixa disponibilidade de fertilizantes. Aquele segundo ideotipo tradicional seria recomendado para uma agricultura de alta tecnologia, sob irrigação e fertilização pesada (ARNON, 1975).

2.A.2.2. Transporte de carbono (intensidade do dreno) e período de enchimento do dreno (duração do dreno)

O transporte de carbono entre a fonte e os diferentes drenos inicia-se pelo carregamento do floema, via células companheiras (o mesmo ocorre para aminoácidos), e vai depender do gradiente osmótico gerado entre a fonte e o dreno, assim como do descarregamento e consumo no dreno, segundo a teoria de MÜNCH (1930). Tal gradiente não é gerado passivamente, há o bombeamento de sacarose para o floema, para os vegetais com transporte apoplástico, mas sobretudo, um transporte de K^+ que é considerado osmoticamente mais importante, do que a sacarose para o carregamento e descarregamento do floema (MILBURN & KALLARACKAL, 1989).

O principal açúcar de transporte é a sacarose. Algumas plantas possuem um transporte simplástico de açúcares para o floema (MADORE, 1994), porém, na maioria, o carregamento no floema é feito via apoplasto mesofílico e é, portanto, considerado ativo, via transportador (para o transporte simplástico há gasto de energia não no carregamento da sacarose, mas na geração do gradiente de K^+). Este processo é sensível à anoxia, baixas temperaturas (as temperaturas ideais são entre 20 e 30°C) e a inibidores da ATPase (BRENNER & CHEIKH, 1995). Este transporte está associado a uma ATPase, com consumo de ATP, que importa K^+ do mesófilo para o floema (a concentração de K^+ no floema é alta: 1%), e exportando H^+ do floema para a folha. Este sistema transportador é controlado pela disponibilidade destes íons e de ATP (HENDRIX, 1994). O transporte de carbono é dependente da idade fisiológica dos tubos crivados. Com o envelhecimento destes, os poros das discutíveis placas porosas (há ou não uma plasmalema entre elas?) começam a ser bloqueados por P-proteínas e calose. Para a maioria das plantas, à exceção de monocotiledôneas que não sintetizam P-proteínas, esses dois compostos é que regem a permeabilidade das placas porosas (MILBURN & KALLARACKAL, 1989).

O K^+ exportado da folha para o floema junto com a sacarose, terá grande importância na geração do gradiente osmótico entre a fonte e o dreno para

que ocorra o fluxo de sacarose para este último, principalmente em um dreno de acúmulo de açúcares solúveis como a cana-de-açúcar. No descarregamento do floema contra gradiente, este se dará através da bomba H^+ e cotransporte H^+ -sacarose, podendo o K^+ também estar implicado neste descarregamento, aumentando o metabolismo de síntese no dreno, e conseqüentemente, o uso de carboidratos que chegam. O descarregamento de sacarose no dreno (no apoplasto ou no citoplasma diretamente), será dependente da atividade das invertases ácida no apoplasto e neutra no citoplasma. Todos esses processos são dependentes de energia e estão sob controle ambiental e hormonal (SIVAK et al, 1989). A manutenção do gradiente osmótico entre a fonte e o dreno, para que ocorra o transporte, é feita: a) pela conversão química da sacarose em hexose ou amido, pois a hexose não é recarregada no floema e o amido reduz a concentração osmótica; b) pela compartimentalização da sacarose no vacúolo do dreno; c) pela utilização da sacarose para crescimento pela biossíntese de outros compostos ou na manutenção da célula (1 mol de sacarose = $CO_2 + H_2O + 76$ ATP); e d) pelo acúmulo de K^+ na fonte.

Em um dreno de utilização, como meristemas apicais em raízes de cevada, 40 a 50% da sacarose são consumidas na respiração de crescimento (síntese de celulose, lipídeos e proteínas); somente 1% da sacarose é usado para a síntese de amido. No início do desenvolvimento do dreno, a respiração de crescimento é alta e a demanda por esqueletos de carbono é grande, enquanto a demanda por ATP é baixa. Assim, uma grande proporção dos carboidratos importados são respirados para produção de ácidos orgânicos, com menor produção de ATP (Fig. 6). Em cenoura e batata, quando o dreno começa a acumular carboidratos, a via do citocromo na cadeia respiratória mitocondrial é mais utilizada, e mesmo com o declínio da fotossíntese e exportação nas fontes, a acumulação de matéria seca nos drenos é pouco reduzida, pois com a respiração via citocromo há maior produção de ATP (MILBURN & KALLARACKAL, 1989).

Portanto, todo o processo de partição de carbono para o dreno é afetado por fatores ambientais que influenciarão o balanço de carbono, via níveis energéticos, e balanço hormonal, causando a resposta na cultura. Em clima tropical, os estresses ambientais, como altas temperaturas e falta de água são bastantes comuns, e por isso quanto maior for o período de enchimento do dreno, maiores as possibilidades de manter o crescimento de pelo menos alguns drenos, e conseqüentemente, a produção. A duração do dreno é também função da duração da fonte, pois não adianta ter um dreno a ser

enchido sem uma fonte de fotoassimilados. Quase todo o carbono que vai para o dreno é proveniente da atividade fotossintética durante o período de enchimento deste dreno, sendo que pouco carbono é retranslocado, ao contrário do nitrogênio (NORMAN et al, 1995). O carbono acumulado anteriormente está na forma de celulose, que é a palha, pouco degradada pelo vegetal. A melhor correlação entre a atividade fotossintética e a produção ocorre no período de floração e frutificação (PENG et al, 1991; HENDRIX, 1994).

Ainda falando do ideotipo proposto por MOCK & PEARCE (1975) e PATERNIANI, (1990), o chamado intervalo entre a floração masculina e a feminina (IFMF), assim como a precocidade de floração, são consideradas características desejáveis para a adaptação à falta de água (BOLAÑOS & EDMEADES, 1995). Mas o IFMF pode ser considerado uma característica para condições tropicais de uma maneira geral, com altas temperaturas, falta de água ou baixa umidade relativa, pois todos estes fatores influenciarão o processo de polinização e fecundação, segundo KRAMER & BOYER (1995). Com esse intervalo mais curto, maiores as chances de um grão de pólen viável atingir o estigma, em qualquer um dos tipos de estresse ambiental.

2.A.3. Relações fonte/dreno nos estádios de desenvolvimento

Um dos objetivos do melhoramento vegetal, que tem resultado em aumento da produtividade, é o aumento do índice de colheita. No campo, o aumento da produção por mudanças na partição de fotoassimilados e nutrientes, pela diminuição do crescimento de órgãos não colhíveis (sem esquecer, no entanto, que um órgão não colhível na maioria das culturas é o sistema radicular, de importância primordial na assimilação de nutrientes e água, sem os quais não há produção de fotoassimilados, segundo DUNCAN & BALIGAR, 1990), através do melhoramento vegetal, tem proporcionado aumentos de produtividade maiores do que os obtidos por otimização das condições de crescimento, ou, pelo menos ainda, com o uso de plantas transgênicas. O potencial de rendimento é regulado pela eficiência fotossintética do dossel, pela partição de matéria seca na planta, e pelas relações fonte/dreno (HSIAO, 1990).

A competição entre os drenos é importante para a produtividade e qualidade do produto colhido. Em tomateiro, o primórdio da inflorescência pode abortar se o fornecimento de assimilados for suficiente somente para os

meristemas vegetativos da parte aérea e raiz. Posteriormente, quando a taxa de crescimento do fruto for máxima, a dos meristemas vegetativos será mínima. A prioridade de dreno na floração do tomateiro é direcionado para as folhas jovens em relação às inflorescências, e durante a frutificação a prioridade é para o fruto em relação às folhas jovens, a qual é prioridade em relação às flores, que por sua vez o é sobre as raízes. A competição entre os drenos é controlada por reguladores de crescimento e pelo tamanho e atividade do dreno, que são sensíveis a fatores ambientais como temperatura e falta de água (HO et al., 1989).

Portanto, segundo os estádios de desenvolvimento, mudam as prioridades de dreno: a) na fase de plântula, a fonte são o endosperma do grão ou os cotilédones, a estaca, o tubérculo ou o bulbo, dependendo da forma de propagação; e o dreno são os meristemas apicais de parte aérea e raiz; b) as folhas, após atingirem 2/3 do tamanho máximo, passam a ser uma fonte ao invés de dreno, havendo mudanças no desenvolvimento anatômico das vias de importação e exportação (WARDLAW, 1990). Os drenos principais continuam a ser as folhas jovens e raízes, que competem proporcionalmente pelos assimilados; e c) no início do desenvolvimento reprodutivo, as flores são pobres competidores, portanto ainda há crescimento vegetativo, e as folhas que atingirem seu tamanho máximo no início do desenvolvimento dos frutos, principalmente as folhas próximas ao fruto, terão uma grande importância no enchimento deste. Com o desenvolvimento do fruto, este promove uma dominância, causando paralização do desenvolvimento de outros órgãos (TAMAS, 1995).

No período de floração há um aumento de atividade fotossintética das folhas (Tab. 3). Porém, nesse estágio não há grande acumulação de matéria seca como no estágio de enchimento do fruto. Acredita-se que este aumento da atividade fotossintética seja induzido pela necessidade de atingir um nível crítico de carboidratos nas folhas próximas ao dreno para que ocorra a polinização e o desenvolvimento do embrião (WARDLAW, 1990, MARSCHNER, 1995). Como pouco carbono é retranslocado na planta, pois está alocado na forma de celulose nas folhas e raízes, que não é degradada pela planta (somente alguns fungos patogênicos sintetizam celulases), a atividade da fonte no período de floração e frutificação assegura os fotoassimilados. Por isso, qualquer fator ambiental que afete a atividade fotossintética neste estágio, como temperaturas altas e estresse hídrico, afetará o desenvolvimento do embrião no fruto e, conseqüentemente, reduzirá drasticamente a produtividade (KRAMER & BOYER, 1995).

2.A.4. Comunicação e interação entre a fonte e o dreno

O metabolismo de carbono na fonte e no dreno, assim como o transporte entre esses tecidos, é regulado por um controle de “feedback” pelos níveis dos metabólitos intermediários e finais, como foi visto em alguns casos no ítem 2.A. O controle por “feedback” é feito diretamente pelo metabólito a nível de transcrição de enzimas específicas do seu metabolismo, ou mediado por fitormônios, os quais controlam essas enzimas. Não havendo uso desses metabólitos ocorre uma diminuição de sua formação (FOYER & GALTIER, 1996).

O sucesso para a existência de todos os organismos é dependente de sua habilidade para coordenar mudanças complexas de desenvolvimento, perceber e responder às flutuações das condições ambientais. Respostas ao estímulo de desenvolvimento e do ambiente ocorrem pelo acoplamento da seqüência estímulo/resposta, que depende da percepção do estímulo pela célula, gerando e transmitindo um mensageiro intracelular (transdução do sinal), que irá promover uma mudança bioquímica; ou induzindo e reprimindo genes, que causarão a resposta da célula (Fig. 8). Tal processo necessita do reconhecimento do estímulo dado por um mensageiro primário (fitormônio) com um receptor na plasmalema, ou diretamente por um receptor (o fitocromo por exemplo), e subsequente uso de um mensageiro secundário e/ou proteínas efetíveis para transmitir o sinal dentro da célula e produzir a resposta desejada (BOWLER & CHUA, 1994).

O movimento de fotoassimilados do local de síntese, na fonte, para o local de uso ou acumulação, no dreno, pode ser regulado em diversos pontos. O gradiente de concentração entre a fonte e o dreno é geralmente aceito como principal determinante da taxa de transporte e partição entre órgãos. Tais processos também são controlados, em parte, por fitormônios que atuam como mensageiros entre células, tecidos e órgãos, promovendo a ativação de genes específicos ou processos metabólicos (FOYER & GALTIER, 1996). Porém, para se avaliar o controle hormonal das relações fonte/dreno, é importante entender primeiro onde atuam estes fitormônios, e se possível, seu local de origem, que se encontra, em geral, nos próprios drenos (HO et al., 1989).

Os grãos têm uma concentração de fitormônios maior que outras partes da planta. Os níveis de auxinas, citocininas, giberelinas e ácido abscísico (ABA) variam distintamente durante o desenvolvimento do fruto e do grão. À excessão de citocininas, a máxima concentração dos outros fitormônios

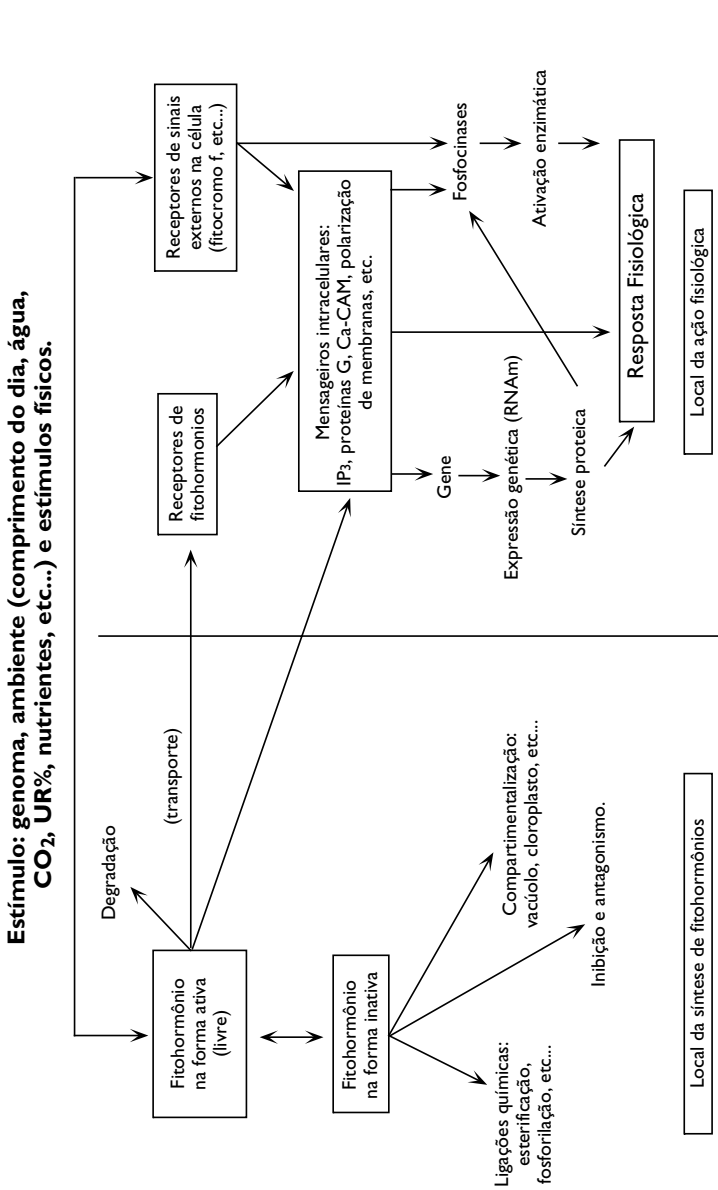


FIGURA 8. Participação de fitormônios na transdução de sinais externos. O fitormônio pode estar presente em um tecido, porém em uma forma inativa, sem causar efeitos.

geralmente ocorre durante o período de máxima acumulação de matéria seca no dreno. Por exemplo, o ABA é encontrado em altas concentrações no eixo embrionário de soja, ou no embrião do milho, isto é, ABA é encontrado em máximas concentrações no local de descarregamento do floema no dreno, durante o período de rápido enchimento do grão. A ocorrência de auxinas em sementes em desenvolvimento é similar ao ABA, pois a máxima concentração somente é observada alguns dias antes do máximo de ABA. Da mesma forma, giberelinas em altas concentrações são encontradas no endosperma de ervilha, no momento de máxima elongação da vagem; assim como as citocininas, atingem os maiores teores no endosperma de grãos de cereais em desenvolvimento. Em trigo, há um aumento da concentração de citocininas 4 a 5 dias pós-antese (BRENNER & CHEIKH, 1995).

Os fitormônios regulam as relações fonte/dreno, provavelmente em uma ação conjunta, onde um fitormônio funciona como promotor de um evento e outro fitormônio como inibidor deste evento. Assim, o vegetal tem como controlar passo a passo todo o processo de assimilação, transporte e utilização de carboidratos, fazendo uma sintonia fina, em função de variações ambientais instantâneas, como teores de CO_2 ou de H_2O , para maximizar o processo de produção vegetal. Provavelmente, nenhum desses processos é controlado por um único fitormônio, mas sim pelo balanço destes, como já foi bem visto para o controle da abertura estomática (MANSFIELD & MCAINSH, 1995). O estímulo floral, por exemplo, acredita-se ser simultaneamente produzido em folhas diferentes, via fitocromos, enviado e amplificado em reações de cascata em dois níveis, com a cooperação entre microfunções intracelulares e macrofunções intercelulares; isto em conexão com a produção e distribuição de energia e ativação genética, associado a modificações no balanço de fitormônios. Tal resposta é dependente também das mudanças ocorridas nas estruturas existentes, e da atividade enzimática que manteve o crescimento vegetativo (JAEGHER & BOYER, 1990).

2.A.4.1. Movimento e possíveis ações de fitormônios na fonte e no dreno

O vegetal controla o movimento de fitormônios entre diferentes tecidos, os quais regulam a absorção de água e nutrientes e o trânsito de assimilados entre a fonte e o dreno, atuando ao nível da plasmalema e causando modificações químico-estruturais em substâncias celulares. Esses fitormônios também atuam no processo de floração. Atualmente, sugere-se que para

ocorrer a floração, um balanço complexo de auxinas, giberelinas e citocininas deva ser atingido, assim como já se sabe que a atividade de peroxidases está correlacionada a esse processo e, dependendo do estágio de crescimento da planta, controla o nível endógeno de auxinas livre e a síntese de parede celular (JAEGER & BOYER, 1990).

Apesar de já termos conhecimento da ação hormonal sobre a fonte e o dreno, devemos acautelar-nos na afirmação de que as relações fonte/dreno são controladas exclusivamente pelos fitormônios. Estes estão envolvidos no controle dos processos responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento vegetal, mas provavelmente agindo em conjunto com outros metabólitos, com a expressão gênica de enzimas e estímulos exógenos e endógenos, que em conjunto, produzirão a resposta do vegetal. Existe uma baixa correlação entre os níveis celulares de fitormônios e os seus efeitos, pois somente uma fração do seu conteúdo está em uma forma ativa e grande parte está inativado por ligações químicas ou por compartimentalização, dependentes de pH e polarização de membranas (Fig. 8). Além disso, necessita-se de receptores celulares no sítio de ação do fitormônio, que perdem a sensibilidade com a idade do órgão e fatores ambientais, como disponibilidade de água e nutrientes, temperatura e fotoperíodo (MARSCHNER, 1995). A seguir serão citados os principais efeitos dos fitormônios conhecidos, sobre as relações fonte/dreno (Tab. 5):

A) Auxinas

O processo chamado **crescimento ácido** para a alongação celular é induzido por auxinas, que ao serem transportadas para dentro da célula (transporte polar de auxinas por um transportador específico) são ionizadas liberando H^+ no citoplasma. Tal processo ativará a bomba de prótons associada à ATPase (H^+ -ATPase) membranar, promovendo a extrusão de prótons, que vai acidificar a parede celular, rompendo as ligações entre as fibrilas de celulose, ou ativando enzimas de degradação de celulose, permitindo o aumento de volume na célula (KASAMO & SAKAKIBARA, 1995). Portanto, as auxinas ou a toxina fúngica fuscosina, estimulam a extrusão de prótons e, conseqüentemente, a expansão celular (MORRIS, 1996).

As auxinas afetam a fotossíntese induzindo a abertura estomática, em uma sintonia fina, associada ao efeito do ABA para resposta rápida às variações ambientais de luz, CO_2 e UR%. O efeito começa com a acidificação do apoplasto em torno das células guardas, que junto com o efluxo de Ca^{2+} , vai

ativar os canais de influxo K^+ na célula guarda (MANSFIELD & MCAINSH, 1995). Provavelmente também as auxinas ou a toxina fúngica (fusicosina) estimulam o carregamento e descarregamento do floema pelo controle da atividade da ATPase membranar, funcionando como um regulador da concentração de K^+ no floema (JAEGHER & BOYER, 1990).

As auxinas se movem do grão de soja para as folhas próximas, em maiores concentrações do meio para o fim do período de enchimento do grão. A remoção dos frutos reduz o exudado de auxinas no pecíolo, indicando que o fruto é a maior fonte dessas. Na fase vegetativa, as auxinas são exportadas do apex de caule, inibindo o crescimento de gemas laterais, demonstrado nos primeiros trabalhos de dominância apical (THIMANN & SKOOG, 1934). Na fase de frutificação de feijão, o crescimento de gemas vegetativas é inibido e, provavelmente, a fonte dessa inibição sejam os grãos dos frutos dominantes. Quando as sementes de frutos mais velhos são retiradas, as gemas axilares retomam o crescimento. Frutos maiores exportam mais auxinas do que frutos menores, mostrando sua maior habilidade para exercer a dominância sobre outros órgãos (BRENNER & CHEIKH, 1995).

B) Citocininas

O crescimento de tecidos meristemáticos é estimulado por citocininas em maçã, macadamia, ervilha e soja, sendo que a zeatina parece ser a mais ativa das citocininas naturais para este processo. Talvez os órgãos dominantes reprimam o crescimento de gemas laterais, agindo como um dreno, ativado pelas auxinas, para acumular a citocinina oriunda de raízes, impedindo o transporte dessas citocininas para as estruturas subordinadas. Estudos recentes mostram que o nível e a distribuição de citocininas são controlados pelo apex vegetativo, que controla, inclusive, a síntese da forma ativa das citocininas (TAMAS, 1995). Citocininas produzidas nas raízes são transportadas via xilema para a parte aérea, retardando a senescência, parecendo induzir o início do desenvolvimento reprodutivo, redirecionando o fluxo de assimilados do apex para as gemas reprodutivas (HO et al., 1989). Sob deficiência de nitrogênio, menos citocininas são sintetizadas no apex radicular, e o que é produzido, pouco exportado para a parte aérea, havendo então indução do crescimento radicular em detrimento da parte aérea (VAN DER WERF, 1996).

A aplicação de citocininas em folhas promove a atividade fotossintética, pelo aumento do conteúdo foliar de clorofilas, acelerando o desenvolvimento de cloroplastos ou modulando a atividade de enzimas fotossintéticas,

Tabela 5. Algumas características e maiores efeitos dos fitormônios.

PRECURSORES	LOCAL DE SÍNTESE	PRINCIPAIS EFEITOS
I- Citocininas (CIT):		
derivados de purina (adenina).	meristema radicular (pouco por meristemas de parte aérea e sementes).	divisão e expansão celular; síntese de RNA e proteínas; indução enzimática; dominância apical; e retardador da senescência;
II- Giberelinas (GA):		
estruturas desde o ácido mevalônico até a do esqueleto de carbono gibano (>80 giberelinas).	folhas em expansão e apex vegetativo, mas também frutos e sementes e talvez raízes.	expansão celular; quebra de dormência de gemas e sementes; indução de floração; e síntese de enzimas (hidrolases).
III- Auxinas (AUX):		
derivados indólicos do triptofano, sendo o mais conhecido, o ácido indol-3-acético (AIA).	meristemas da parte aérea, e em dicotiledôneas, na gema apical e folhas jovens.	dominância apical; divisão e expansão celular cambial; indução e ativação de enzimas (H ⁺ -ATPase).
IV- Ácido abscísico (ABA):		
carotenóides: violoxantina e neoxantina.	meristema radicular e tecidos já diferenciados da parte aérea.	inibição da expansão celular da parte aérea; fechamento estomático; favorece a abscisão; induz dormência de gemas e sementes; inibe a síntese de DNA; ativa ribonucleases e aumenta a permeabilidade membranar.
V- Etileno (ET):		
Metionina e ácido aminociclopropano-1-carboxílico (ACC).	várias partes da planta e de órgãos.	estímulo da germinação; direcionamento do crescimento de raiz; epinastia de folhas; indução da floração, maturação e amadurecimento.

Baseado em Marschner (1995).

retardando assim a senescência (MARSCHNER, 1995). No dreno, as citocininas estimulam a formação de amiloplastos para acúmulo de amido, reduzindo o aborto de grãos (BRENNER & CHEIKH, 1995).

C) Giberelinas

Um dos processos sob controle hormonal mais bem estudados é o da germinação, onde giberelinas produzidas pelo embrião de trigo ou cevada são exportada para a camada de aleurona do grão, estimulando a síntese da alfa-amilase e outras hidrolases para a hidrólise do amido, liberando hexoses para o crescimento do embrião. Outro efeito conhecido das giberelinas é a indução de floração, mesmo sob condições não indutivas. A aplicação de giberelina exógena em primórdios florais promove o desenvolvimento desses órgãos reprodutivos (JAEGHER & BOYER, 1990).

A retirada de frutos de videira causa diminuição dos teores de giberelinas nas folhas, sugerindo que frutos em desenvolvimento também exportam giberelinas para as folhas próximas. A remoção de tais frutos diminui a atividade fotossintética da folha fonte, provavelmente pela diminuição do conteúdo de giberelinas nessa folha. Giberelinas aumentam a atividade da sacarose-fosfato sintetase, estimulando a exportação de sacarose da folha, sendo consideradas indutoras de desenvolvimento reprodutivo (BRENNER & CHEIKH, 1995). Em ervilha, a giberelina estimula o efeito inibidor de auxinas quando as duas são aplicadas juntas no apex vegetativo, provavelmente estimulando a exportação da auxina no ápice dominante. Da mesma forma, há uma interação entre giberelinas e auxinas estimulando a atividade da invertase ácida de drenos em desenvolvimento, e a expansão dos entrenós de cana-de-açúcar. As giberelinas também estão envolvidas na dormência e iniciação do desenvolvimento de tubérculos de batata, associado aos níveis de inibidores, de carboidratos disponíveis e dos fatores ambientais como luz, temperatura e fotoperíodo (TAMAS, 1995).

D) Ácido abscísico

O ácido abscísico (ABA) regula, entre outros processos, a maturação do embrião, a dormência de sementes e a atividade mitótica em meristema radicular (BOWLER & CHUA, 1994). O movimento do ABA entre fonte e dreno parece ser dinâmico. ABA move-se rapidamente de raízes e folhas maduras para todos os outros órgãos vegetativos, acumulando-se, geralmente, em tecidos de dreno. Quando aplicado em folhas fonte de plantas em frutificação, o ABA é exportado para os grãos em desenvolvimento, enquanto

ao ser aplicado sobre o grão em desenvolvimento, fica imóvel. Um dos efeitos mais conhecido do ABA é sobre o controle estomático em folhas. O ABA produzido na raiz e em folhas maduras é exportado para outras folhas, causando fechamento estomático e diminuindo a atividade fotossintética em pouco tempo, talvez diminuindo também a atividade carboxilase e aumentando a atividade oxigenase da rubisco. O ABA afeta o grau de abertura estomática, controlando o influxo e efluxo de K^+ nas células guardas, assim como os de Cl^- e ácidos orgânicos na plasmalema e tonoplasto dessas células, para o balanço iônico. Este processo controlará a entrada ou saída de água nas células guardas e conseqüente movimento estomático (MANSFIELD & McAINSH, 1995). O ABA funciona como um mensageiro (sinal) entre a raiz e a parte aérea, em condições de dessecação do solo, para induzir o fechamento estomático e economizar água, antes mesmo de haver variações no potencial hídrico de folha (DAVIES et al., 1990). Outros estresses como excesso de água e salinidade também induzem à formação de ABA, como mensageiro entre a raiz e a parte aérea (BRENNER & CHEIKH, 1995). A alongação celular na zona de crescimento de raízes é mantida em condições de falta de água pela produção de ABA, que estimula a atividade da enzima xiloglucano-endotransglicosidade, quebrando as moléculas de xiloglucanos, que são estabilizadoras das microfibrilas de celulose (WU et al., 1994). Este fitormônio também está envolvido na adaptação anatômica e morfológica de raízes em solos compactados (HARTUNG et al., 1994).

Os drenos, principalmente os grãos, podem regular a atividade da fonte, retirando este ABA, que se move para o dreno, estimulando o descarregamento do floema e aumentando a atividade das invertases. ABA move-se das folhas para as vagens em desenvolvimento (na soja) e é também transportado, via floema, para as raízes, sendo reciclado de volta para a parte aérea, via xilema. Durante um estresse por altas temperaturas ou falta de água, na fecundação de flores e formação de frutos, há um aumento do teor de ABA nestes órgãos, diminuindo a porcentagem de fertilização. Tal porcentagem de fertilização também é dependente da atividade fotossintética nas fontes (MARSCHNER, 1995).

E) Etileno

O modo de ação do etileno ainda não está bem compreendido, apesar de se saber que o etileno afeta algumas respostas fisiológicas e induz mudanças específicas na expressão genética. Este fitormônio afeta a quebra de dormência em frutíferas de clima temperado e em algumas sementes, afeta também o

direcionamento do crescimento meristemático em epicótilo e raízes, a resposta ao estímulo físico, a abscisão de órgãos, a indução floral (em abacaxi) e a maturação de frutos climatéricos, associado à diminuição de um inibidor como as auxinas ou a senescência (REID, 1994).

O processo de senescência de folhas, flores e frutos vai afetar drasticamente a produtividade. Neste processo, o etileno foi considerado o agente primário, porém estudos com mutantes de *Arabidopsis* demonstraram que a senescência pode ocorrer na ausência do etileno em forma ativa. Portanto, o etileno deve estar envolvido na aceleração da senescência causada por estresse ambiental e menos na senescência natural (REID, 1994). O etileno inibe a fotossíntese, provavelmente pela indução do fechamento estomático e aumento do teor de ABA. O aumento de sua produção na folha é acompanhado por um aumento da respiração, como um pico climatérico (BRENNER & CHEIKH, 1995).

F) Outros compostos com ação hormonal ou de transdução

Algumas substâncias como as poliaminas e os jasmonatos, exercem um controle sobre o metabolismo de carbono. A sua ação se dá muitas vezes em tecidos distintos daquele onde foi sintetizado, sendo considerados, portanto, portadores de uma ação hormonal. Outras substâncias em estudos como mensageiros intracelulares, mas que podem ter uma ação hormonal, são o ácido salicílico, espécies ativas de oxigênio (EAO) e brassinoesteróides. Estes últimos são lipofílicos, causando efeitos sobre a extrusão de prótons e no potencial de membranas, provavelmente modificando a estrutura e funções das membranas, com efeitos benéficos em culturas hortícolas (MARSCHNER, 1995).

As poliaminas, principalmente a diamina putrescina e a triamina espermidina, são encontradas em plantas superiores, e mutantes que não sintetizam essas poliaminas são incapazes de desenvolverem-se normalmente. Alguns autores as consideram mensageiras intracelular. O declínio no teor de poliaminas celulares causa diminuição ou paralização do crescimento da célula. Acredita-se que as poliaminas afetem a síntese e a atividade de macromoléculas, a permeabilidade de membranas e processos como a mitose e meiose. Nas membranas, as poliaminas as estabilizam, protegendo-as contra a lise, estabilizando proteínas membranares e mediando mudanças na estrutura fina dessas membranas, afetando o transporte transmembranar. Essas poliaminas estabilizam o DNA e protege-o contra a desnaturação por calor. Elas controlam também a fosforilação de certas proteínas nucleolares e a síntese de proteínas, podendo servir para tamponar o pH citoplasmático, pelos

seus grupamentos amino. As poliaminas estão envolvidas também nos processos de floração, impedimento da senescência, e na adaptação à seca, salinidade e temperaturas altas, e sua síntese é afetada por auxinas e giberelinas (GALSTON & KAUR-SAWHNEY, 1995).

Já os jasmonatos são ácidos graxos que regulam também o crescimento celular, e sua biossíntese envolve a ação de lipoxigenases, oxidando o ácido linoleico. Tais compostos são considerados fitormônios do estresse, similarmente ao ABA, e sua síntese é aumentada sob falta de água, induzindo à síntese de proteínas benéficas sob condições de estresse, como a osmotina e chaperonas. Estes compostos são bastante móveis no floema, sendo mais efetivos do que o ABA na indução de senescência. Vários genes ou produtos da ação gênica, principalmente ligados ao crescimento celular mas também à defesa do vegetal, são controlados pelos jasmonatos. O estímulo externo induz à ação da lipoxigenase e de outras enzimas, produzindo os jasmonatos, que afetam o crescimento ou impedem a ação de produtos tóxicos de insetos e fungos. A estrutura química, propriedades físicas e atividade dos jasmonatos são próximas as do ABA, provavelmente existindo um sinergismo entre estes (STASWICK, 1995). Tais compostos podem inibir o crescimento celular, inibir a germinação de sementes e pólen, e promover, a partir de frutos e sementes, a senescência de folhas e a tuberização de batata (MARSCHNER, 1995).

2.A.4.2. Resposta intracelular à mensagem externa

A percepção de um sinal externo pode ocorrer diretamente sem a ação hormonal, pela luz azul ou vermelha, umidade e teor de CO₂ do ar; pelo dessecação do solo, para o controle do movimento de estômatos; pela radiação vermelho distante, no efeito fotoperiódico; ou pela diferença de potencial membranar, na absorção mineral e movimentos de estômatos e de tecidos, como sinais externos; ou pode ocorrer via um fitormônio começando por um receptor na plasmalema, na maioria das respostas desconhecido (Fig. 9), onde o fitormônio se acopla a este receptor, iniciando-se uma série de reações metabólicas e ativação de canais iônicos nas diferentes vias de transdução de sinais. Essas vias alterarão a concentração de mensageiros intracelulares, também chamados mensageiros secundários, que por sua vez induzirão o processo fisiológico de resposta, principalmente através da fosforilação de enzimas pela ação de cinases, tornando-as ativas, ou através da indução gênica (MANSFIELD & MCAINSH, 1995).

A) Os mensageiros intracelulares

As principais vias de transdução de sinais (Fig. 9), já bem conhecidas em animais, são: os níveis de Ca^{2+} no citosol e sua associação com a calmodulina (Ca-CAM); a ação de cinases e transportadores membranares; a via do inositol-1,4,5-fosfato (IP_3), que controla também os níveis de Ca^{2+} no citosol; a via de proteínas G, afetando também a ativação de cinases e produção do inositol-1,4,5-fosfato; e alterações no pH citosólico e potencial transmembranar. Estes estudos estão se iniciando em vegetais (BETHKE et al., 1995). Após a percepção do sinal, o processo celular de resposta é iniciado em geral pela fosforilação de enzimas, por cinases e/ou pela indução gênica (STRYER, 1995). Um mensageiro intracelular conhecido em animais é a via do AMP cíclico, porém a presença de AMP cíclico em plantas ainda é motivo de controvérsia (VERHEY & LOMAX, 1993).

Via do Ca^{2+} - O Ca^{2+} é considerado um transdutor intracelular; e inúmeros processos fisiológicos vegetais são afetados pelos níveis intracelulares de Ca^{2+} , ou através de ligações com proteínas como a calmodulina (CaM). O efeito fisiológico se dá pela ação de enzimas dependentes de Ca^{2+} /CaM (Fig.9), principalmente as cinases (que vão fosforilar outras enzimas tornando-as ativas, permitindo a reação bioquímica dependente dessas enzimas, na forma fosforilada), assim como ativando bombas iônicas (Fig. 10) (BETHKE et al., 1995). O Ca^{2+} parece estar envolvido também na resposta ao fotoperíodo, como mensageiro secundário na célula, após a percepção de radiação vermelho distante pela formação do fitocromo que absorve este tipo de radiação. Nesse processo, o Ca^{2+} estimula principalmente o desenvolvimento de cloroplastos e do complexo fotossintético (BOWLER & CHUA, 1994).

A concentração de Ca^{2+} no citosol em estado basal é de 100 a 200 nM para não formar fosfato de cálcio insolúvel na célula. Essa concentração intracelular é várias vezes menor do que a concentração no apoplasto. Porém, a abertura de canais de Ca^{2+} em membranas externas e internas (bombas de Ca^{2+} , na plasmalema, vacúolo e no retículo endoplasmático, como na Fig. 9) pode aumentar rapidamente a concentração de Ca^{2+} no citosol e depois promover sua saída e retorno à concentração basal. Para a transdução do sinal de um mensageiro primário (fitormônios, por exemplo) para dentro da célula, há necessidade de um receptor na plasmalema, que estimula a atividade dos transportadores membranares. Com altas concentrações de Ca^{2+} externo à célula, estocado na parede celular, este será bombeado para dentro, iniciando o processo fisiológico. As bombas de Ca^{2+} são de 2 tipos: transporte de Ca^{2+}

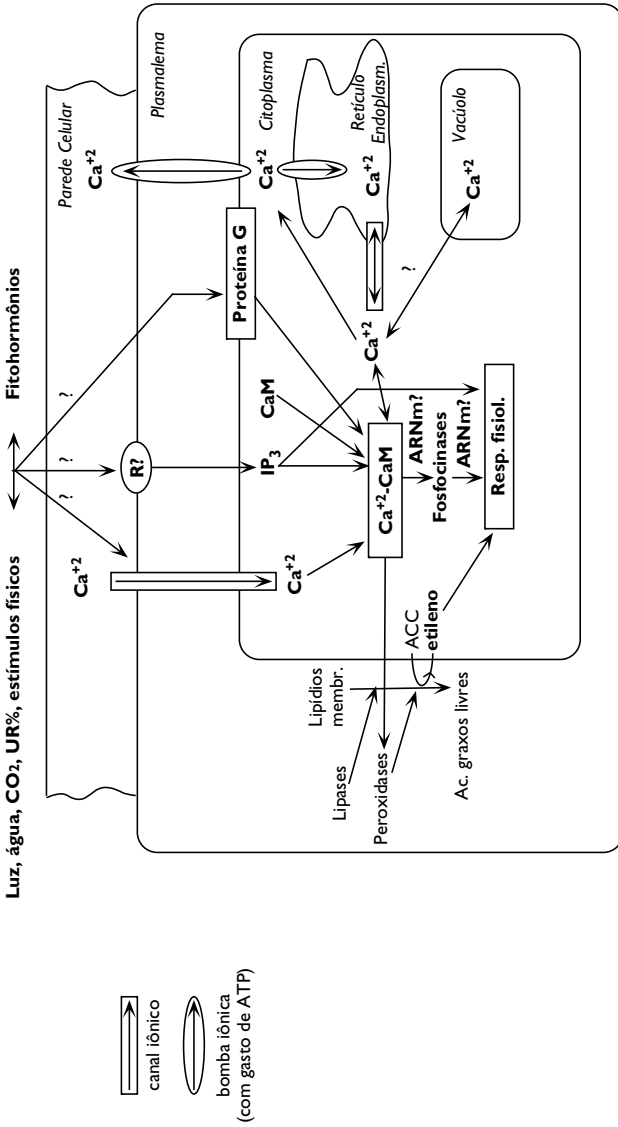


FIGURA 9. Mensageiros intracelulares para a transdução de sinais. Os mecanismos de transdução estão representados em conjunto, pois há uma interação entre as diferentes vias de sinais: do Ca²⁺, da associação Ca-CAM, do IP₃ e de proteínas G. Estas vias ativam outros processos, como a ação de cinesas e síntese de ARNm, que por sua vez induzirão a resposta fisiológica. R?: receptor membranal desconhecido; IP₃: inositol-1,4,5-trifosfato; CAM: calmodulina; ACC: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.

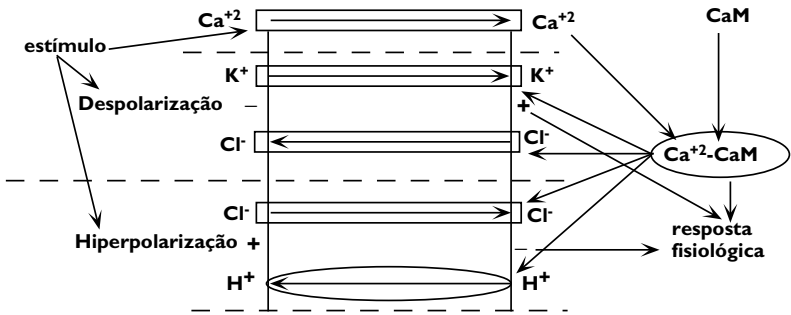
associado à hidrólise de ATP e transporte de H^+/Ca^{2+} (BETHKE et al., 1995). O Ca^{2+} também controla os outros canais iônicos, de K^+ e de ânions, como o de Cl^- e o de malato, modelo bem conhecido para o controle da abertura estomática (Fig. 11 e Fotos 3, 4, 5 e 6). O aumento do nível de Ca^{2+} no citosol das células guardas, causa o fechamento estomático (COUSSON et al., 1995). O Ca^{2+} parece controlar também o transporte de célula a célula via plasmodesmata, abrindo ou fechando o plasmodesmo em um sistema do tipo “gap junctions”, como é conhecido em animais (LEW, 1995).

Variações de pH - A concentração de H^+ no citosol funciona como outro mensageiro intracelular, afetando o potencial membranar e os canais de Ca^{2+} , K^+ e de Cl^- . O efeito do ABA causando o fechamento estomático, por exemplo, é dependente do pH da célula guarda (WARD et al. 1995), assim como o gradiente de pH na rizosfera é responsável pela distribuição de ABA na planta. A acidificação da rizosfera de pH 6 para 4 aumenta a concentração de ABA no xilema em 70% (DAETER et al., 1993).

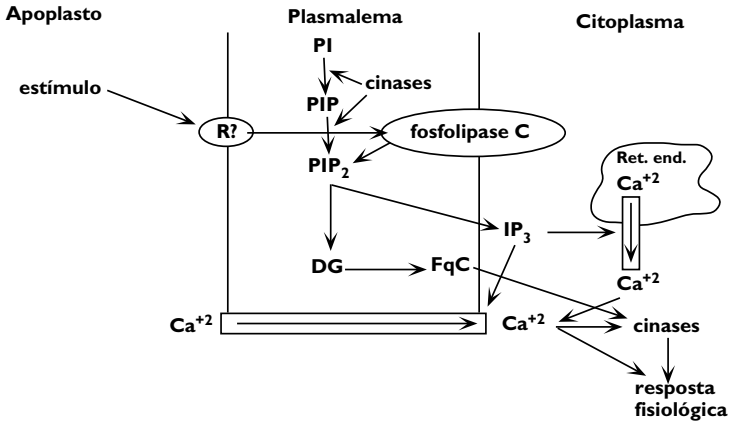
O controle do pH citoplasmático é mediado por um tipo de proteína integral de membranas, as ATPases- H^+ da plasmalema (“PMHA”), também existente no tonoplasto. Essas são as proteínas integrais de membranas mais bem estudadas, controladas por uma família de genes, e no caso da plasmalema, com 5% da superfície exposta para o apoplasto, e 70% para o citoplasma. Essa proteína consome energia química do ATP para transferir prótons para fora do citoplasma. Ela é chamada também de bomba de H^+ , e também requer uma interação com os fosfolipídeos membranares para a sua ativação. Portanto, o transporte de prótons é dependente destes fosfolipídeos membranares, que modulam a atividade da ATPase- H^+ (KASAMO & SAKAKIBARA, 1995).

A extrusão de prótons, via ATPase, vai alterar a concentração de H^+ em determinados locais da plasmalema e do apoplasto (Fig. 10) afetando assim o potencial transmembranar local (STOECKEL & TAKEDA, 1990). Tal processo vai regular a polarização da plasmalema e a atividade dessa bomba de H^+ é aumentada pela presença de luz, causando a hiperpolarização nas células guardas e conseqüente influxo de K^+ , na abertura estomática, por exemplo (Fig. 11). A despolarização da membrana, no escuro, vai causar o fechamento estomático pelo processo inverso (COUSSON et al., 1995). O transporte de muitos solutos (íons, metabólitos, etc...) para dentro e fora da célula é mediado por transportadores secundários, cuja habilidade para o funcionamento é dependente da força próton-motiva, criada pela ATPase- H^+ (MICHELET & BOUTRY, 1995). Para a síntese de 1 mol de ATP são requeridos de 2 a 3 moles de H^+ (KRÖMER, 1995).

A) Via do Ca^{+2} e polarização de membranas:
 Apoplasto Plasmalema Citoplasma



B) Via do IP_3 :



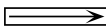
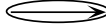
 canal iônico
 bomba iônica,
 com gasto de ATP

FIGURA 10. Mecanismo de ação de 2 dos principais mensageiros intracelulares: a) Via do Ca^{+2} , Ca-CaM e canais iônicos; e b) Via do IP_3 . CaM: calmodulina; PI: inositol-fosfato; PIP_2 : fosfatidil-inositol-4,5-bisfosfato; DG: diacilglicerol; FqC: fosfolipase C; IP_3 : inositol-1,4,5-trifosfato.

Os canais iônicos e o potencial eletroquímico transmembranar - O estudo de canais iônicos foi revolucionado pela técnica de grameamento setorial ("patch-clamp") na década de 70, a qual, trabalhando com uma célula inteira ou um pedaço da plasmalema, permite a medição da corrente elétrica gerada, enquanto uma voltagem conhecida é aplicada. Os estudos do controle de canais iônicos pelo potencial transmembranar foi bem desenvolvido para a compreensão do estímulo nervoso em neurônios de animais (STRYER, 1995). Somente há pouco tempo estes estudos começaram a ser desenvolvidos em células vegetais e, portanto, o conhecimento deste processo em plantas ainda está se iniciando. A diferença entre um canal iônico e uma bomba de íons é que, no canal existe sempre uma passagem entre o meio externo e interno, que pode estar fechada; e no caso das bombas, o transporte se dá por mudança conformacional do transportador transmembranar, com gasto direto de energia neste processo, sem que haja ligação direta entre o espaço externo e interno (STOECKEL & TAKEDA, 1990).

O transporte de metabólitos pode ser energizado por um gradiente de potencial eletroquímico entre os dois lados da membrana, promovido pela bomba de H^+ , ATP dependente e facilitado por canais e bombas iônicas para o apoplasto e para o vacúolo. Os valores do potencial eletroquímico (E_M) são bastante variáveis, de $-40mV$ a $-220mV$. Um aumento na diferença de potencial eletroquímico, ou hiperpolarização, é sinônimo de uma diminuição de E_M (para valores mais negativos), e uma diminuição da diferença de potencial eletroquímico, ou despolarização, é sinônimo de um aumento de E_M (JACOBY, 1994).

Os canais iônicos nas membranas celulares são sensíveis à voltagem e/ou são Ca^{2+} -dependentes. Existem canais catiônicos e aniônicos na plasmalema e no tonoplasto que regulam a concentração de íons no citoplasma. Estes canais podem ser rápidos (R-tipo), promovendo o transporte em menos de 50 milissegundos, ou lentos (S-tipo), promovendo o transporte em tempo mais longo (CERANA et al., 1995). A célula pode variar o seu potencial membranar através dos canais e das bombas de extrusão de prótons, controlando assim os canais de Ca^{2+} , K^+ e Cl^- , que são os canais iônicos mais bem conhecidos em vegetais. Os níveis de Ca^{2+} no citosol são mantidos também através do controle dos canais de Ca^{2+} , de K^+ , de malato e de Cl^- , que por sua vez são controlados pela diferença de potencial elétrico transmembranar, pelo potencial de Nernst para aquele íon, e pelas ATPases, Ca^{2+} dependentes, movidas pela hidrólise do ATP (JAEGHER & BOYER, 1990).

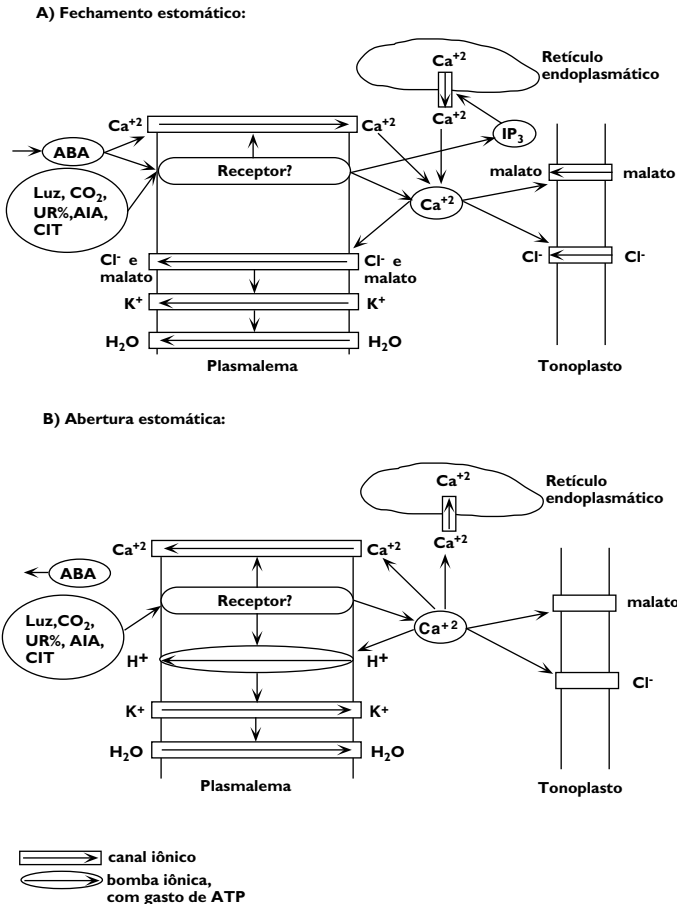


FIGURA 11. Mecanismos de controle estomático, segundo Mansfield & McAinsh (1995): A) Fechamento estomático; e B) Abertura estomática. IP₃: inositol-1,4,5-trifosfato; ABA: ácido abscísico; AIA: auxinas; CIT: citocininas. O ABA promove um efeito de longo prazo (durante a falta de água, por exemplo), enquanto que a luz, o CO₂, a UR%, AIA e CIT, modulam esta resposta instantaneamente, mesmo sob a ação de ABA. Para o fechamento dos estômatos, primeiro são ativados os canais aniônicos de resposta rápida, de Cl⁻ e malato, para depois serem ativados os canais de efluxo de K⁺ e de água. Na abertura, os canais aniônicos são bloqueados e a bomba de H⁺ é ativada, promovendo o influxo de K⁺ e de água (Schroeder, 1995).

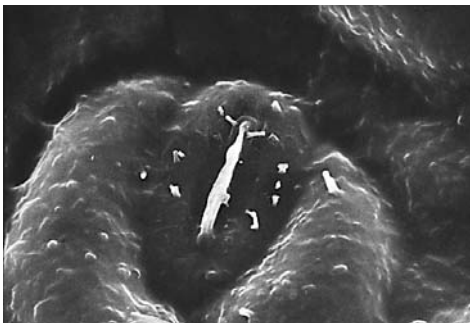
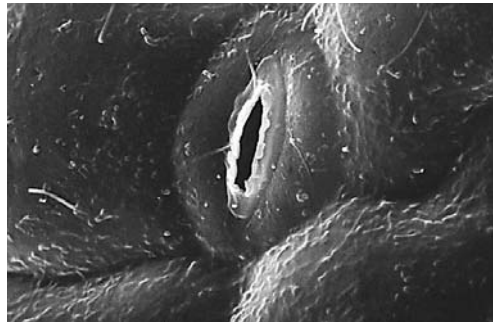
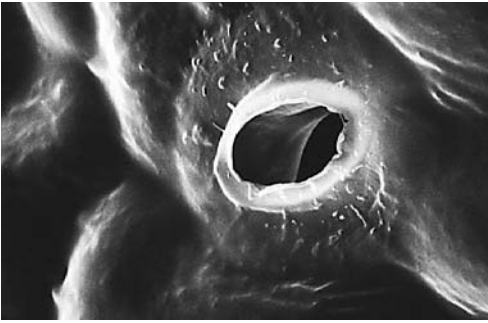


FOTO 3. Três estádios da abertura estomática de colza (*Brassica campestris*). Fotos feitas em microscópio eletrônico (X 4000), e cedidas por cortesia do Prof.D. Laffray, da Universidade de Paris 12.

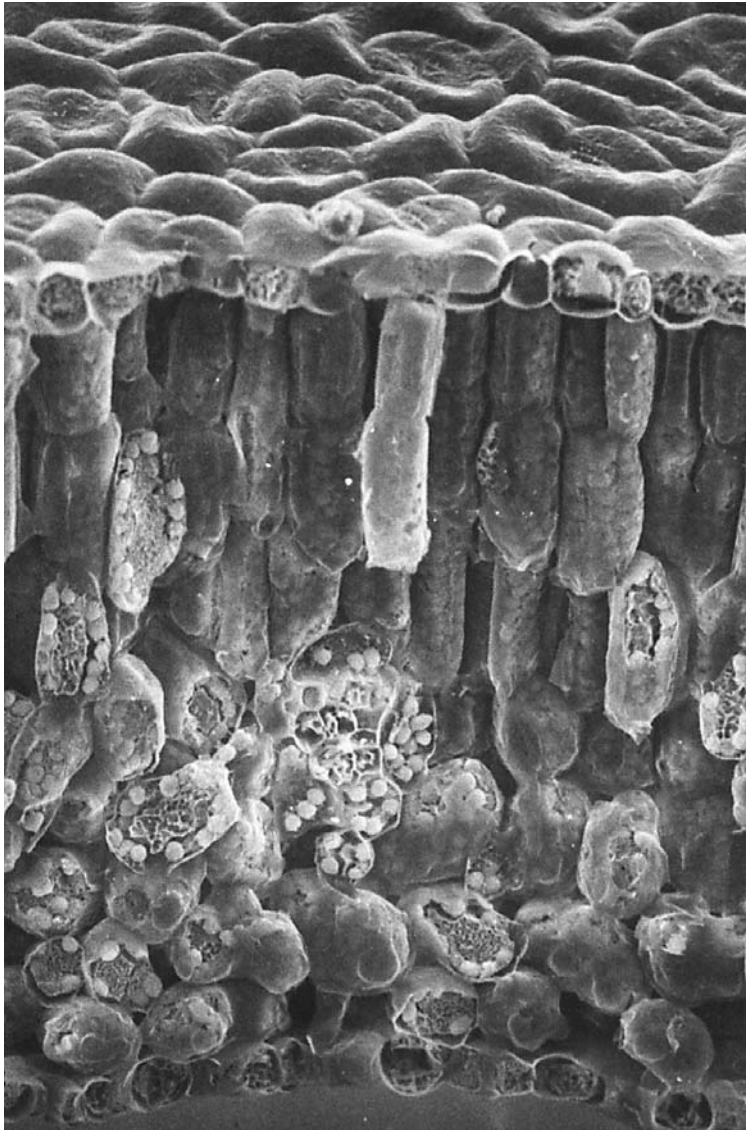


FOTO 4. Anatomia foliar de colza (*Brassica campestris*), obtidas por crioscopia. Fotos feitas em microscópio eletrônico (X 500), e cedidas por cortesia do Prof.D. Laffray, da Universidade de Paris 12.

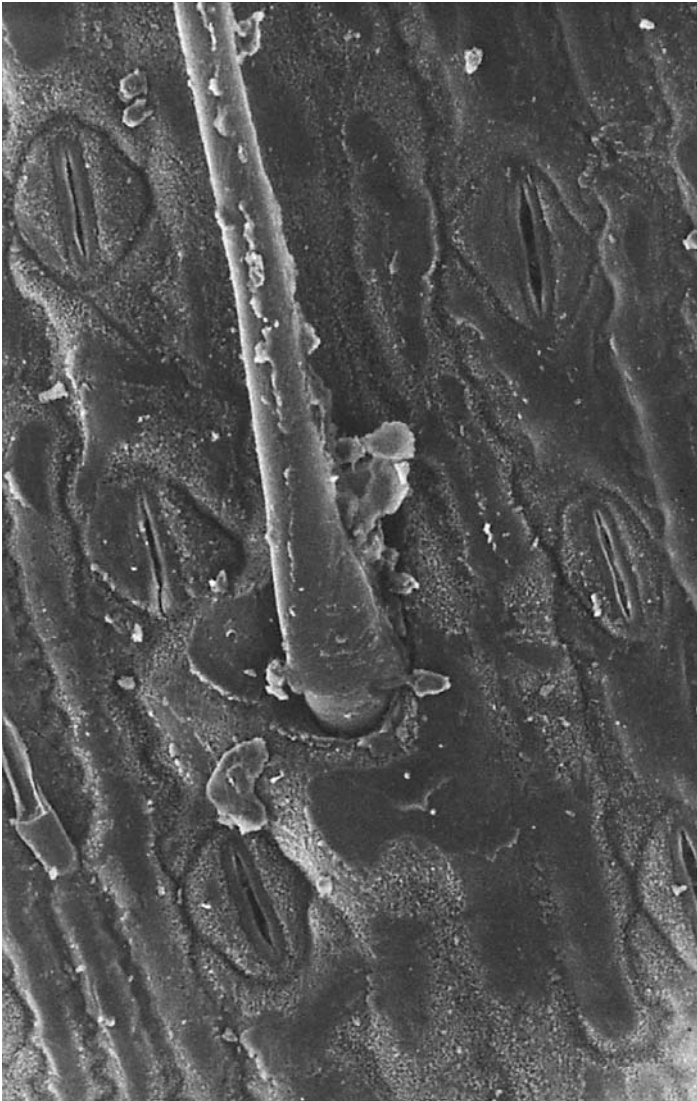


FOTO 5. Superfície foliar de milho (*Pennisetum glaucum*), mostrando a base de um tricoma, estômatos e células dispostas paralelamente. Fotos feitas em microscópio eletrônico (X 500), e cedidas por cortesia do Prof.D. Laffray, da Universidade de Paris 12.

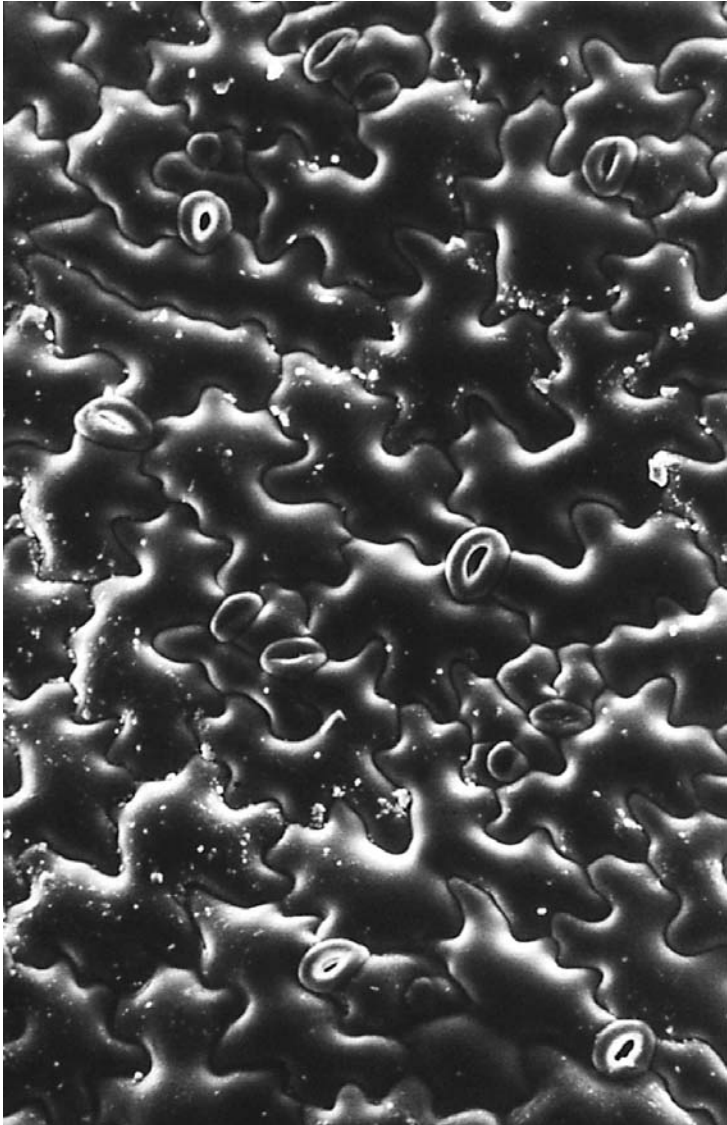


FOTO 6. Superfície de folha de *Arabidopsis thaliana*. Fotos feitas em microscópio eletrônico (X 300), e cedidas por cortesia do Prof.D. Laffray, da Universidade de Paris 12.

O controle dos canais iônicos e conseqüentemente a resposta ao estímulo externo envolve a polaridade da membrana plasmática e vacuolar. Em plantas, vários mecanismos podem causar a despolarização da membrana (potencial eletroquímico transmembranar menos negativo, passando de -140 a -200 mV, para -50 a -90 mV), através de receptores na membrana, causando a ativação de canais ânionicos lentos (S-tipo) e rápidos (R-tipo) (de malato no tonoplasto e principalmente de Cl^- , na plasmalema para o apoplasto), considerados como mecanismo chave para a transdução do sinal em estômatos (Fig. 11) (SCHROEDER, 1995). Este acúmulo de ânions no citoplasma causa inibição da bomba de H^+ . A chamada hiperpolarização de membranas (potencial eletroquímico transmembranar mais negativo, atingindo os valores de -140 a -200 mV), ocorre pelo processo inverso à despolarização, com inibição de canais ânionicos, que provocarão a ativação da bomba de H^+ (WARD et al., 1995). A hiperpolarização da membrana ativará os canais de influxo de K^+ e/ou efluxo de Cl^- e a despolarização da membrana, por sua vez, modulará os canais de efluxo de K^+ e/ou influxo de Cl^- , assim como os de malato no tonoplasto (CERANA et al., 1995). Estes, por sua vez, controlarão fenômenos como a abertura ou fechamento estomático e movimento de folhas (COTÉ, 1995). É importante salientar que mesmo com a despolarização pode haver efluxo de Cl^- , se por exemplo, o potencial eletroquímico de Nernst para o Cl^- for maior no interior do que no exterior da célula (JACOBY, 1994).

Essas variações no potencial transmembranar vão afetar e controlar o transporte de metabólitos entre a célula e o exterior. A despolarização ou hiperpolarização da membrana vai regular também o fluxo de Ca^{2+} entre a célula e o apoplasto e, conseqüentemente, a resposta celular (STOECKEL & TAKEDA, 1990).

Via do inositol(1,4,5)-fosfato - A ação do Ca^{2+} está associada também à ação de outro mensageiro intracelular, o inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) (Fig.10). A enzima fosfolipase C na plasmalema, ativada pelo receptor membranar do estímulo, por cinases ou pela intervenção de proteínas G, hidrolisa o fosfatidil inositol 4,5-bifosfato (PIP_2), um lipídeo da membrana, produzindo o IP_3 e diacilglicerol (DG) (COTÉ, 1995). O DG, que é um outro mensageiro intracelular, mantém-se um componente membranar e favorecerá a fosforilação de proteínas na membrana, como a proteína cinase C, dependente de Ca^{2+} e de fosfolipídeos. O IP_3 , por sua vez, estimula a liberação de Ca^{2+} estocado no lúmen do retículo endoplasmático para o citosol, e estimula os canais de Ca^{2+} da plasmalema, para entrada deste íon. Adicionalmente ao mecanismo de síntese do IP_3 , a fosfolipase A_2 , também

constituente da plasmalema, é estimulada pela associação $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$, ativando lipoxigenases, que formarão hidroxiperóxido de ácidos graxos. Tais compostos funcionarão como ionóforos para a entrada de Ca^{2+} na célula. Pela regulação dos níveis de Ca^{2+} no citosol, o IP_3 participa junto com outros mensageiros secundários no controle de diversos processos fisiológicos, entre eles a resposta a luz azul e vermelha e o controle de fluxo de K^+ , para o movimento de estômatos (COTÉ, 1995). Durante a resposta ao estímulo externo, as concentrações de IP_3 são menores que 0.2 atomoles (10^{-8} mol) (VERHEY & LOMAX, 1993), e após a indução do processo, o IP_3 é rapidamente catabolizado (JAEGER & BOYER, 1990).

Via das proteínas G - A resposta fisiológica pode também se dar pela ação de proteínas G (assim chamadas devido ao fato de estar associada ao balanço de GDP/GTP, um nucleotídeo com guanina ao invés da adenosina do ATP, durante o seu ciclo de funcionamento). As pequenas proteínas G (uma única cadeia polipeptídica) atuam sobre as funções intracelulares, e as heterotrímicas (com 3 subunidades, alfa, beta e gama) atuam na transdução de sinais transmembranar (VERHEY & LOMAX, 1993).

Certas cinases para se tornarem ativas são dependentes da associação $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ e/ou da ação de proteínas G. Através dessas cinases, outras enzimas do processo fisiológico de resposta são fosforiladas nos resíduos de serina ou treonina, passando a ser funcionais (MANSFIELD & McAINSH, 1995). As proteínas G parecem estar também envolvidas, junto com o Ca^{2+} , na resposta ao estímulo fotoperiódico (BOWLER & CHUA, 1994), assim como para a ativação da fosfolipase C, na via do inositol-fosfato, sob estímulo produzido pela luz azul e pela luz vermelha, por exemplo (COTÉ, 1995). As proteínas G regulam os canais de K^+ em células guardas e estão envolvidas também na resposta intracelular à auxina (VERHEY & LOMAX, 1993).

B) Outros sistemas intracelulares para a resposta fisiológica.

Além da ação dos mensageiros intracelulares citados acima, ou mesmo sob o efeito destes, o processo fisiológico de resposta a um estímulo externo pode ocorrer por indução gênica ou por outros sistemas enzimáticos intracelulares ainda pouco estudados, tais como:

A ação das peroxidases em membranas e a produção de espécies ativas de oxigênio (EAO) - Certas enzimas são desintoxicadoras da ação oxidativa tóxica de espécies ativas do oxigênio, EAOs (como por exemplo, o anion superóxido $[\text{O}_2^-]$, o radical oxidrilo $[\text{OH}^\bullet]$ e o peróxido de hidrogênio $[\text{H}_2\text{O}_2]$), produzidos pelo metabolismo, como o H_2O_2 produzido na

fotorespiração. No cloroplasto, a superóxido dismutase consome O_2^- e produz H_2O_2 , que é reduzido a H_2O por peroxidases no ciclo da ascorbato peroxidase-glutaton redutase (MARSCHNER, 1995). A mesma função tem a catalase no peroxissoma, removendo o peróxido de hidrogênio formado durante a reação das enzimas acil-CoA oxidase, glicolato oxidase e urato oxidase (WILLEKENS et al., 1995). Da mesma forma, a ação da glutaton redutase, das vitaminas C e E e de carotenóides, eliminariam essas espécies ativas de oxigênio na célula. Estes radicais livres têm um efeito deletério sobre os lipídios insaturados das membranas celulares, como o ácido linoleico e linolênico, afetando a integridade membranar. A manutenção da atividade protetora dessas enzimas desintoxicadoras se dá pela regulação de genes que controlam suas atividades. Principalmente em cloroplastos, a ação dessas enzimas desintoxicadoras poderá retardar a senescência e os efeitos dos fatores ambientais sobre as membranas cloroplásticas (PEÑARRUBIA & MORENO, 1994). As peroxidases catalizam também a polimerização de fenóis, com consumo de H_2O_2 , para a formação de lignina e suberina e, podem também estar associadas à resposta fotoperiódica, causando modificações nas membranas e controlando os níveis de fitocromos e Ca^{2+} na célula (JAEGHER & BOYER, 1990). A ação do balanço antagônico de ABA e citocinina na morfogênese, se dá pelo controle da expressão genética de peroxidases, envolvidas também na resposta à falta de água, salinidade e trauma físico. Altos níveis de peroxidases estão relacionados com diminuição da elongação celular, minimizando a extensibilidade da parede celular (CHALOUPKOVÁ & SMART, 1994).

Além desses efeitos, as espécies ativas de oxigênio e o ácido salicílico participam na interação patógeno-hospedeiro e nos mecanismos de tolerância específica àquele patógeno. Atualmente se usa para descrever a tolerância a alguns patógenos o termo “resistência sistêmica adquirida” (RSA), que é um conjunto de respostas fisiológicas na planta (produção de lignina, morte do tecido atacado e outros) e sobre o patógeno (o ataque ao patógeno, pela ação de H_2O_2) promovido por certos genes de defesa, ativados a partir de sistemas de sinais (HAMMOND-KOSACK & JONES, 1996). O objetivo deste conjunto de respostas seria localizar a invasão, impedindo sua disseminação na planta. Em tal sistema de defesa da planta, o RSA, a produção de H_2O_2 e do ácido salicílico está ligada a transdução de sinais dentro e entre células, iniciando uma resposta conjunta do tecido, para evitar a disseminação do patógeno (FERNANDES et al., 1997).

A ação das cinases e das fosfatases sobre as fosfo-proteínas - A resposta bioquímica ao estímulo externo será, em grande parte, induzida por uma “cascata” de fosforilações de algumas enzimas chaves para este processo bioquímico, através das cinases. Algumas dessas cinases são solúveis no citoplasma e outras estão associadas à plasmalema, dependentes de Ca^{2+} ou da associação Ca^{2+} -calmodulina, para a sua ação (VERHEY & LOMAX, 1993).

Nos cloroplastos existem mais de 30 fosfoproteínas nos tilacóides, estroma e membrana cloroplástica, que são ativadas pela sua fosforilação; entre elas, as proteínas da cadeia de transporte de elétrons, controlando o fluxo de elétrons para a fotofosforilação cíclica ou não cíclica, assim como algumas enzimas do ciclo de Benson-Calvin (BENNETT, 1991). Outras enzimas, as fosfatases, se encarregam da desfosforilação daquelas enzimas chaves, tornando-as inativas novamente. A repressão da ação das fosfatases pode também induzir o processo. Portanto, a fosforilação ou desfosforilação de uma enzima chave de um processo bioquímico, controla a intensidade do processo bioquímico de resposta ao estímulo externo (BOWLER & CHUA, 1994).

A degradação de proteínas - A atividade de uma enzima, responsável pela resposta celular por exemplo, depende tanto da taxa de síntese como da taxa de degradação. Por isso a regulação diferenciada da estabilidade enzimática representa um mecanismo para modulação da expressão gênica e da resposta fisiológica. Atualmente, aumentam as evidências de que a degradação seletiva de enzimas funciona como um mecanismo de regulação enzimática (CALLIS, 1995). A atividade de proteinases, que são enzimas proteolíticas, vai controlar a atividade da enzima degradada (VIERSTRA, 1996).

A perda da sensibilidade ao sinal externo pode estar associada, portanto, à degradação seletiva de proteínas (por exemplo, os receptores membranares de sinais) que, comparada com a fosforilação de proteínas e outras modificações reversíveis, é uma forma drástica de inativar uma proteína. Mas este processo pode ter uma grande importância para o controle de proteínas que são requeridas, seja por período limitado, seja em condições específicas de desenvolvimento ou do metabolismo, mas que podem ser deletérias em condições normais. Por exemplo, a ciclina atua estimulando a divisão celular, mas sua degradação é um mecanismo regulatório essencial para que a célula passe para a próxima fase no ciclo celular. A degradação de proteínas de reserva estimula a germinação de uma semente ou o crescimento em outros tecidos. Na senescência de tecidos ocorre a degradação de proteínas e exportação de aminoácidos para tecidos em formação. Estes são alguns exemplos do controle de relações fonte/dreno, através da proteólise, devido à ação de proteinases (BOWLER & CHUA, 1994).

2.A.4.3. Uso de plantas transgênicas para a eficiência do balanço de carbono

Desde 1980, o uso de plantas transgênicas tem se tornado uma ferramenta poderosa para a fisiologia vegetal. Plantas transgênicas têm sido usadas para estudos do controle metabólico por fitormônios e outros compostos; manipulação das relações fonte/dreno; adaptação ambiental; conservação de alimentos e tolerância a doenças, insetos e herbicidas. Os estudos com plantas transgênicas sobre a ação hormonal tem permitido progressos na compreensão destes fenômenos. O mais espetacular resultado nessa área foi o adiamento do amadurecimento e senescência de tomate, pela inibição da síntese de etileno ou inibição da percepção do seu sinal. Esses resultados poderão ser aplicados em outros frutos climatéricos ou para a floricultura. Outrossim, padrões de balanço de auxinas e de citocininas poderão ser modificados para alterar as relações fonte/dreno, alterando assim a produtividade agrícola (KLEE & LANAHAN, 1995).

O modelo vegetal mais utilizado para os estudos de biologia molecular, a exemplo das drosófilas para a genética animal, é uma pequena crucífera, *Arabidopsis thaliana*, que apresenta várias vantagens como modelo vegetal. Por ser um vegetal de pequeno porte, ela pode ser cultivada em grande quantidade, até em tubos de ensaio, podendo produzir milhares de descendentes em oito a dez semanas. Ela tem também a grande vantagem de possuir o menor genoma vegetal conhecido (7×10^7 pares de nucleotídeos). Através da cultura de tecidos e de transformações celulares, foram obtidos diversos mutantes e, hoje em dia, uma coleção completa e organizada de clones de ADN genômico está disponível (ALBERTS et al., 1994).

Avanços já foram conseguidos em algumas áreas, com plantas transgênicas já sendo cultivadas, apresentando tolerância a herbicidas e tolerância a insetos (como o algodão, tomate e tabaco, com a toxina Bt, oriunda do *Bacillus thuringiensis*, ou o gene "pea lectin" em batata) e conservação de alimentos, como o tomate FLAVR- -SAVR. Na proteção de culturas, contudo, o uso de plantas transgênicas com a toxina Bt, já demonstrou problemas como nos tratamentos químicos, pois certos artrópodos têm mostrado tolerância à toxina Bt. O mesmo poderá ocorrer com a tolerância a herbicidas, com o surgimento de ervas daninhas também tolerantes a estes herbicidas. Ao contrário da tolerância a fatores bióticos (pragas e doenças), que são características em geral monogênicas, a tolerância ao estresse ambiental é multigênica, dificultando bastante o avanço nessa área, porém alguns

resultados já foram conseguidos, como: tolerância ao frio em *Arabidopsis thaliana*, tabaco e alfafa, e tolerância a metais pesados em tabaco e *Brassica napus* (ROGERS & PARKERS, 1995). Outra grande dificuldade no progresso, na área de adaptação ambiental, é o fenômeno da redundância genética, onde a expressão fenotípica é controlada por funções de múltiplos genes que funcionam em rede, com comunicação e “feedback loops” entre eles. Nesse processo, se um membro da rede é perdido por mutações, a expressão fenotípica é mantida pelos outros genes restantes. Isto faz com que um gene retirado ou adicionado a uma planta transgênica, possa não causar variação fenotípica de comportamento no campo, por exemplo (PICKETT & MEEKS-WAGNER, 1995). Por enquanto ainda não foram conseguidos progressos na produtividade agrícola via plantas transgênicas, e necessitamos de um conhecimento mais aprofundado sobre o controle genético em rede para uma expressão fenotípica desejada.

Outro problema com a biologia molecular é que devemos ter muito cuidado com a dispersão dessas características introduzidas em uma planta para outras, por exemplo via pólen das transgênicas, cruzados com plantas silvestres ou ervas daninhas compatíveis, formando híbridos e perdendo-se o controle dessa característica. A erradicação dessas plantas silvestres e/ou invasoras modificadas torna-se extremamente difícil; é o que já está acontecendo em algumas regiões onde se trabalha com a biologia molecular (RAYBOULD & GRAY, 1994).

A manipulação genética, via plantas transgênicas, tem sido de grande auxílio, principalmente na compreensão do processo de partição e alocação de assimilados na planta e seus efeitos na produtividade agrícola, para a identificação das etapas chaves que controlam a taxa fotossintética e a conseqüente habilidade da fonte em produzir fotoassimilados. Para tanto, mutantes com níveis alterados de enzimas chaves do metabolismo de carbono já foram desenvolvidos.

A análise de mutantes de tabaco com um decréscimo de 60% dos níveis da rubisco, mostra que só há uma inibição de 6% da atividade fotossintética. Essa redução do nível de rubisco em 60% é compensada por um aumento de 60 a 100% do processo de ativação da enzima, pela rubisco ativase. Uma posterior redução da atividade restante (50% da atividade restante), da rubisco, vai então causar uma diminuição drástica da atividade fotossintética (SONNEWALD et al., 1994). Portanto a rubisco (mais de 50% das proteínas foliares) pode funcionar como uma proteína de reserva de N, diminuindo sua atividade sem alterar a assimilação de CO₂, quando houver deficiência de N.

Outra enzima chave no metabolismo de síntese de carboidratos é a frutose-1,6-bifosfatase ([2], Fig. 12). O produto da ação dessa enzima, a frutose-6-fosfato, é o metabólito que canaliza os assimilatos recém-formados, para a síntese de sacarose no citoplasma. Estudos com folhas de batata modificada geneticamente, com somente 10% da atividade da frutose-1,6-bifosfatase, tiveram seu crescimento retardado, com redução de 42% no teor de clorofilas, mantendo uma atividade fotossintética de 5 a 10%, e somente 25% da produção de tubérculos, quando comparadas com plantas não transformadas. Plantas modificadas com 40% da atividade da frutose-1,6-bifosfatase, tiveram sua atividade fotossintética reduzida para 80%, mas não diferiram das não transformadas, na produção de tubérculos. O que indica que a atividade fotossintética não é tão limitante para a quantidade de carboidratos acumulados no tubérculo. Uma redução de 20 a 30% da atividade do transportador de fosfato ([1], Fig. 12) na membrana cloroplástica (responsável pela exportação de trioses-P) de plantas de batata transformadas, não reduziu a atividade fotossintética, mas diminuiu os teores de trioses-P e de glicose-6-P nessas folhas, com concomitante aumento dos teores de amido no cloroplasto. Isto, com apenas somente uma modificação da alocação de carbono na folha (KOßMANN et al., 1996).

Outras manipulações feitas para aumento de duas a três vezes da atividade da sacarose-fosfato sintase ([3], Fig. 12) (responsável pela síntese de sacarose) em espinafre, não causaram aumento do teor de sacarose na folha, e o excedente da enzima foi desativado. Em tomate, o aumento da atividade da sacarose-fosfato sintase não causou aumento na alocação de carbono para o fruto, mas estimulou o crescimento da parte aérea, aumentando a relação parte aérea/raíz (FOYER & GALTIER, 1996). Manipulações da atividade da frutose-6-P fosfotransferase em batata (responsável pela interconversão de frutose-2,6-bifosfato e frutose-6-fosfato, regulando a síntese de amido ou sacarose), pela remoção do pirofosfato, através do aumento da atividade de uma pirofosfatase, desloca o equilíbrio da reação para a formação de frutose-6-fosfato, estimulando a síntese de sacarose. Tais plantas apresentam um aumento de duas a quatro vezes na relação de açúcares solúveis para açúcares insolúveis, devido a uma diminuição dos teores de amido com um pequeno aumento no teor de sacarose. Quando o equilíbrio é deslocado no sentido inverso, para a acumulação de frutose-1,6-bifosfato provocada por feedback, há redução dos processos de sua síntese, desde as trioses-P no cloroplasto, que são então desviadas para a síntese de amido.

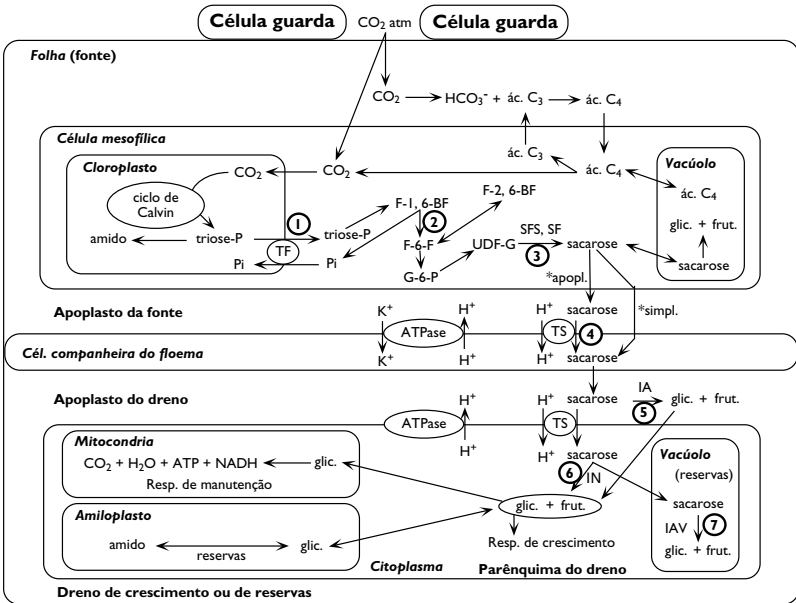


FIGURA 12. Alocação de C na fonte e no dreno: metabólitos participantes da síntese, transporte, acumulação e utilização de carboidratos em organelas celulares nos 2 tipos de tecido. Adaptado de Davies (1995). Etapas de controle do fluxo de C: (1) Transportador de fosfato, responsável pela troca de trioses-P por fosfato inorgânico (Pi), no envelope cloroplástico; (2) enzima frutose-1,6-bisfosfatase, que controla as concentrações de frutose-1,6-bisfosfato (F-1,6-F) e frutose 6-fosfato (F-6-F), e conseqüentemente, a alocação de C em amido ou sacarose; (3) enzimas sacarose-fosfato sintase (SFS) e sacarose fosfatase (SF), para a síntese de sacarose; (4) transportador de sacarose (TS) (em plantas com transporte apoplástico), que regula a passagem de sacarose para o floema da fonte, e do floema para o citoplasma do dreno; (5) enzima invertase ácida (IA), que hidroliza sacarose no apoplasto do dreno; (6) enzima invertase neutra (IN), que hidroliza a sacarose no citoplasma; e (7) enzima invertase ácida vacuolar (IAV), que hidroliza a sacarose no vacúolo do dreno. F-2,6-BF: frutose-2,6-bisfosfato, que controla a atividade de (2) e de outras 7 enzimas do metabolismo de C; G-6-F: glicose-6-fosfato; e UDF-G: uridina-difosfoglicose.

Ainda em batata (na qual, o transporte de sacarose para o floema é apoplástico), manipulações genéticas para inibição do transportador de sacarose para as células companheiras na folha diminuiu a fotossíntese, aumentando os teores de hexoses, sacarose e amido da folha, e reduzindo o crescimento de raízes e tubérculos, diminuindo assim a produtividade. Da mesma forma, manipulações genéticas para aumento da atividade das invertases ácida ([5], Fig. 12) e neutra ([6], Fig. 12) levaram a um aumento de 30% no peso fresco dos tubérculos, com diminuição do número de tubérculos. Tais experimentos demonstram a possibilidade de manipular-se a alocação e partição de carbono na planta (SONNEWALD et al., 1994).

2.B. ALOCAÇÃO DE CARBONO NA PLANTA (ASPECTOS BIOQUÍMICOS)

Os primeiros carboidratos produzidos pela assimilação de carbono, dentro do cloroplasto são a trioses-P (Fig. 12), que são o dihidroxi-acetona-fosfato (DHAP), o gliceraldeído-fosfato (G3P), o ácido difosfoglicérico (DPGA) e o ácido fosfoglicérico (PGA). A interconversão dessas trioses-P consome ou produz ATP e NADPH (estes últimos não atravessam o envelope cloroplástico; Fig. 1). Essas trioses produzidas no cloroplasto são exportadas para o citoplasma ou usadas para a síntese de amido no cloroplasto, como reserva da folha. No citoplasma, essas trioses são consumidas pela célula ou aportam ATP e NADPH para o citoplasma; ou servem ainda, para a síntese de sacarose, para reserva no vacúolo ou para serem exportadas para outros tecidos (Fig. 12) (VAN DER WERF, 1996).

2.B.1. Metabolismo de carboidratos no cloroplasto e transporte para o citoplasma

As trioses-P produzidas no cloroplasto podem, portanto, ser exportadas para o citoplasma ou convertidas em amido para reserva no próprio cloroplasto. Quando a concentração de trioses-P no cloroplasto é alta, as trioses-P do cloroplasto não são exportadas, e são desviadas para a síntese de amido. Havendo necessidade, durante o período noturno, por exemplo, o amido é hidrolisado para que triose-P seja exportada. Quando a demanda de trioses-P para o citoplasma é alta, não há síntese de amido no cloroplasto (SIVAK et al., 1989). A síntese, ou degradação do amido, é controlada pelo metabolismo da sacarose no citoplasma (BECK & ZIEGLER, 1989).

A saída dessas trioses-P dos cloroplastos, interconvertendo-se entre elas no citoplasma e depois retornando ao cloroplasto, funciona como sistema de fornecimento de ATP e NADPH para o seu consumo no citoplasma da própria célula (Fig. 1), ou para outras células, como é o caso do transporte dessas trioses-P entre as células do mesófilo e da bainha perivascular em plantas C_4 do tipo NADP-ME (Fig. 4) (EDWARD & WALKER, 1983; HALL & RAO, 1994). A passagem dessas trioses-P, através do envelope cloroplástico, é regulada pelo transportador de fosfato (Fig. 12) em um processo de transporte associado à entrada de fósforo inorgânico (Pi) (RAO et al., 1990). Portanto, o nível de Pi no citoplasma controla a saída de trioses-P do cloroplasto, podendo limitá-la e, conseqüentemente, reduzir a assimilação de CO_2 , pelo excesso de trioses-P no cloroplasto (BRENNER & CHEIKH, 1995).

2.B.2. Síntese de sacarose no citoplasma

No citoplasma, as trioses-P são convertidas em frutose-1,6-bifosfato, que sob ação de uma enzima chave no controle do fluxo de carbono na célula, a frutose-1,6-bifosfatase ([2], Fig. 12), é transformada em frutose-6-fosfato, liberando Pi. A frutose-6-fosfato pode ser utilizada para a síntese de sacarose, ou ser fosforilada por uma cinase, produzindo frutose-2,6-bifosfato, que pode retornar à forma de frutose-6-fosfato pela ação da mesma cinase ou pela ação da frutose-2,6-bifosfatase. O destino da frutose-6-fosfato para a síntese de frutose-2,6-bifosfato ou para a síntese de sacarose é controlado pelos níveis de trioses-P e sacarose, no citoplasma. Quando o teor de trioses-P é alto, há inibição da síntese de frutose-2,6-bifosfato e indução da formação de sacarose. Quando o teor de sacarose é alto no citoplasma, há inibição de sua síntese e indução da formação de frutose-2,6-bifosfato. A frutose-2,6-bifosfato, funciona como uma reserva citoplasmática de carboidratos e, quando há uma demanda de sacarose para exportação para outros tecidos por exemplo, o carbono na forma de frutose-2,6-bifosfato é convertido prontamente em sacarose para a exportação, enquanto o cloroplasto não começa a produzir as trioses-P (HAWKER et al., 1991).

A atividade dessas enzimas é afetada pela concentração de outros metabólitos, tais como Pi e frutose-6-fosfato. A enzima frutose-1,6-bifosfatase é controlada pelos níveis de frutose-2,6-bifosfato, considerada um metabólito que além de controlar a produção de carboidratos, pela fotossíntese, controla a degradação de hexoses-fosfato na glicólise e desvio das pentoses. Pelo menos sete outras enzimas, na glicólise e na síntese e degradação de sacarose e amido,

são reguladas pelos níveis de frutose-2,6-bifosfato. Este metabólito está envolvido também no controle da alocação de carbono para a formação de amido no cloroplasto (e em outras organelas também), ou de sacarose no citoplasma, como em uma solução tamponada (HUBER, 1986). A regulação da atividade da enzima frutose-1,6-bifosfatase é o passo irreversível para síntese de sacarose, e a atividade dessa enzima também é modulada pela disponibilidade do substrato para manter uma taxa fotossintética ótima, de forma que somente uma triose-P em cada seis produzidas, deixe o ciclo de Benson-Calvin para ser exportada (MADORE, 1994).

Ainda no citoplasma, a frutose-6-bifosfato pode ser transformada em glicose-6-fosfato, e depois em glicose-1-fosfato, que por sua vez é convertida em um nucleotídeo, uridina-difosfoglicose (UDP-G, Fig. 12). O resíduo glicose deste nucleotídeo é então associado à frutose-6-P, na reação catalizada pela sacarose-fosfato sintase (SFS; [3], Fig. 12), produzindo sacarose-fosfato, que é transformada em sacarose pela enzima sacarose fosfatase (SF), liberando Pi no citoplasma (HAWKER et al., 1991). O Pi liberado na síntese da sacarose vai estimular a exportação de trioses-P do cloroplasto (MADORE, 1994).

Essa sacarose produzida no citoplasma pode ser transportada para outras células, via simplasto, exportada para o apoplasto ou acumuladas, para posterior utilização, no vacúolo. A exportação de sacarose é prioritária sobre o armazenamento de sacarose no vacúolo ou sobre a síntese de amido (WARDLAW, 1990).

2.B.3. Carregamento de sacarose no floema

A sacarose é o principal carboidrato de transporte entre as fontes e os diferentes drenos, que é feito via floema. Acredita-se que a principal forma de transporte de sacarose na folha até os vasos condutores seja via apoplasto, visto que há poucas conexões plasmodesmáticas entre as células companheiras do floema e células do mesófilo, na maioria dos vegetais. Devido à alta concentração de sacarose no floema, o carregamento de sacarose neste é feito contra o gradiente de difusão, sendo um processo dependente de energia.

Porém, em algumas espécies como oliveira, coleus, pepino e milho, existem numerosos plasmodesmos entre as células companheiras e as do mesófilo adjacente e, portanto, nessas espécies, o transporte de sacarose para o floema é simplástico, sem maiores gastos de energia para o carregamento do floema (MADORE, 1994). No milho, uma planta C_4 , o PGA formado pelo ciclo de Benson-Calvin é transferido da bainha perivascular para o mesófilo, para ser

reduzido a outras trioses-P que voltam para a bainha perivascular, sendo aí acumuladas nos cloroplastos como amido ou transferidas como sacarose, via simplasto, para o floema, no transporte para outros tecidos (WARDLAW, 1990).

Portanto, em vegetais com poucos plasmodesmos entre as células companheiras e as do mesófilo, como o tabaco e o tomate, o transporte é essencialmente apoplástico (exclusivamente?) e, em outros vegetais com grande número de plasmodesmos, como árvores tropicais e espécies dos gêneros *Cucurbita* e *Coleus*, o transporte é principalmente simplástico (HENDRIX, 1994).

No carregamento, a sacarose é importada para a célula companheira do floema por um transportador de sacarose (TS; [4], Fig. 12), em cotransporte com um H^+ . Este cotransporte está acoplado a um transporte, via uma ATPase, onde um K^+ passa do mesófilo para o floema e um H^+ volta do floema para o mesófilo, havendo gasto de energia metabólica neste processo (BRENNER & CHEIKH, 1995).

2.B.4. Transporte de carboidratos no floema

O transporte da sacarose através do floema sempre foi considerado passivo, por gradiente de concentração de açúcares, maior na fonte e menor no dreno, segundo a teoria de MÜNCH (1930). Porém, hoje já sabemos que o K^+ é bombeado para dentro do floema (Fig. 12), em um transporte via ATPase, associado ao transportador de sacarose. Este acúmulo de K^+ no floema da fonte vai ter grande importância para a geração de um gradiente osmótico entre a fonte e o dreno, principalmente quando o dreno tem uma concentração de açúcares maior do que a fonte, como acontece na acumulação de açúcares no final da maturação da cana-de-açúcar ou de fruteiras. Neste caso, o transporte ocorre por gradiente de concentração (teoria de MÜNCH, 1930), mas a geração deste gradiente pelo K^+ acumulado no floema da fonte, demanda energia (BRENNER & CHEICK, 1995). Por isso, o transporte de carboidratos é maior durante o dia do que à noite, e é afetado por inibidores da respiração, sendo que seu fluxo pode ser mais limitante para a produção do que o tamanho do dreno (WARDLAW, 1990).

2.B.5. Descarregamento de sacarose do floema para o dreno

A sacarose que chega ao dreno pelo floema pode ter 4 destinos, segundo HENDRIX (1994):

1) a sacarose do floema é descarregada diretamente nas células do dreno, via plasmodesmata, sendo hidrolisada a glicose e frutose no citoplasma, pela invertase neutra (IN; [6], Fig. 12), ou acumulada no vacúolo, podendo posteriormente ser hidrolisada a hexoses pela invertase ácida vacuolar (IAV; [7], Fig. 12). Este mecanismo de descarregamento do floema ocorre em folhas de beterraba açucareira, meristema radicular de milho e endocarpo de feijão.

2) A sacarose é descarregada dos tubos crivados para o apoplasto do dreno, onde é hidrolisada a hexoses, via invertase ácida (IA; [5], Fig. 12), e as hexoses são transportadas através da plasmalema para o citoplasma das células do dreno. No citoplasma, a sacarose é resintetizada e pode ser acumulada no vacúolo. Tal mecanismo permite uma rápida acumulação de sacarose no vacúolo, pois as hexoses são transportadas mais rapidamente pela plasmalema. Este é o mecanismo de descarregamento em internódios imaturos de cana-de-açúcar, em sementes de milho e sorgo, e absorção de alguns parasitas.

3) A sacarose é descarregada do floema para o apoplasto no dreno, sendo transportada diretamente para o citoplasma do dreno, onde é hidrolisada a hexoses, pela invertase neutra, podendo ser consumida na respiração da célula. Quando existe excesso dessas hexoses formadas, há a síntese de sacarose no citoplasma, e essa é transferida para o vacúolo. Caso o vegetal necessite dessa sacarose acumulada no vacúolo, ela pode ser novamente hidrolisada a hexoses, via a IAV (MACHADO, 1987). Isto ocorre na propagação de cana-de-açúcar ou quando essa é queimada ou cortada, sem ser imediatamente industrializada. Este mecanismo existe também em raízes de beterraba açucareira, sementes de leguminosas e grãos de trigo.

4) A sacarose descarregada no dreno segue um destes 3 mecanismos de entrada no citoplasma e então, as hexoses são incorporadas em amido, como reservas de grãos, raízes e tubérculos, ou na forma de frutanos, em bainha de folhas de gramíneas de clima temperado.

De uma forma geral, a via simplástica de descarregamento é a mais comum em tecidos imaturos, e a via apoplástica mais comum em tecidos maduros já com o crescimento paralizado. Este processo de descarregamento vai afetar o gradiente osmótico no floema, e, conseqüentemente, o transporte de carboidratos. Pode-se comprovar tal fato na correlação do crescimento vegetativo da cana-de-açúcar com a atividade da invertase ácida, no apoplasto dos colmos (WARDLAW, 1990). Porém, para obtenção de genótipos com maior acumulação de sacarose nos colmos, MARSCHNER (1995) propõe a seleção pela atividade da sacarose-fosfato sintase citoplasmática, ao invés da invertase ácida apoplástica.

2.B.6. Metabolismo de carboidratos no dreno

O transporte de carboidratos no dreno também pode ser apoplástico ou simplástico. O transporte apoplástico deve ocorrer em alguns grãos e frutos devido à inexistência de vasos condutores entre o tecido maternal e a semente. Por outro lado, o transporte simplástico ocorre no endosperma de trigo (HENDRIX, 1994).

Os carboidratos que chegam ao dreno podem ser utilizados, segundo HAWKER et al. (1991), para:

1) a respiração de manutenção, produzindo energia química e poder redutor para o metabolismo. Neste caso, a oxidação de glicose tende a ser completa, formando CO_2 e H_2O , produzindo a máxima quantidade de ATP e NADH para todos os processos endergônicos ou de oxi-redução, necessários à manutenção da célula, tais como: o transporte de metabólitos, as reações enzimáticas e a manutenção dos teores proteicos (“turnover” de proteínas), que pode consumir mais de 50% da energia para manutenção, segundo BRYCE & THORNTON[1996]), etc...

2) a respiração de crescimento, onde a glicose é “queimada” parcialmente, fornecendo energia e poder redutor para a síntese de aminoácidos, lipídios, nucleotídeos e outros compostos secundários, a partir dos esqueletos de carbono produzidos na glicólise, desvio das pentoses e ciclo de Krebs (Fig. 6) (MARSCHNER, 1995).

3) serem estocados como reserva a ser utilizada posteriormente. A estocagem de carboidratos pode se dar na forma de sacarose, como na cana-de-açúcar e raízes de beterraba açucareira, na forma de açúcares redutores para alguns frutos, na forma de amido (amilase e amilopectina) para grãos de cereais, mandioca e batata, ou ainda na forma de frutanos em algumas gramíneas. Em grãos de oleaginosas, como a soja, há uma correlação entre os teores de amido e óleos (que também são uma forma de reserva de carbono); no início do desenvolvimento do grão, os teores de amido são baixos (1% do peso seco), aumentando até à metade do seu desenvolvimento (10% do peso seco) e diminuindo drasticamente durante a maturação do grão, enquanto os teores de óleos aumenta. Os teores de amido voltam a aumentar na germinação (e os teores de óleos decrescem), durante os 5 dias de embebição da semente, decrescendo após este período (BOYER, 1996).

Os carboidratos acumulados como reserva podem ser hidrolisados para uso na respiração de manutenção e de crescimento, quando não há produção de fotoassimilados na fonte durante a noite, com a perda de folhas, para o desenvolvimento de gemas vegetativas, na germinação de sementes, etc...

A sacarose no dreno é metabolizada pela ação das invertases ou da sacarose sintase, sendo formada a partir dessas reações, a glicose-1-fostato. Essa pode, sob a ação da UDP-G pirofosforilase, transformar-se em UDP-glicose, usada na síntese de calose, celulose ou frutanos. Outro produto dessas reações endergônicas é a frutose-1,6-bifosfato. Essa pode ser convertida a frutose-6-fosfato e vice-versa, sob a ação de pirofosfatases, como na folha, controladas pelos níveis de frutose-2,6-bifosfato. A partir da frutose-1,6-bifosfato começam as reações da glicólise para a respiração, e a partir da frutose-6-fosfato, as reações da glicogênese, nos amiloplastos (Fig. 12) (HAWKER et al., 1991).

Para a glicogênese, a frutose-6-fosfato é transformada em glicose-1-fosfato, o outro produto da ação das invertases. A glicose-1-fosfato é transportada para o amiloplasto e convertida em ADP-glicose pela ADP-glicose sintetase, para ser então usada na formação dos diferentes tipos de amido (a amilase, com ligações alfa-1,4 somente e a amilopectina, com essas ligações, assim como ligações alfa-1,6, que fazem as ramificações), por ação das amido sintases. A posterior degradação deste amido é feita por hidrolases, dentre elas as alfa e beta amilases, e fosforilases. Essas últimas mediam tanto a síntese como a degradação do amido. Em tubérculos de batata, inhame e batata doce, assim como em raízes tuberosas de mandioca, o conteúdo de amido varia de 65% a 90% do peso seco, com 70% de amilopectina, e 30% de amilose (BECK & ZIEGLER, 1989).

Segundo SIVAK et al. (1989), a acumulação de carbono (na fonte e no dreno) pode ser feita também em frutanos, principalmente em gramíneas em clima temperado, e a sua síntese é mediada por duas enzimas. A primeira, sacarose-sacarosilfrutose transferase (SST), a partir de duas moléculas de sacarose, formando uma isoquestose (um trissacarídeo, sucrosil-frutose), a partir da qual o polímero de frutanos é sintetizado pela ação da beta-(1,2) ou beta-(2,6)-frutano 1-frutosil transferase (FFT), com até 35 resíduos de frutose. Provavelmente, grande parte do metabolismo de frutanos ocorre no vacúolo, onde estes são acumulados. A sua degradação se dá pela ação de frutano hidrolases.

A acumulação de carbono em alguns vegetais, como maçã, pêssigo e abricó, pode também se dar em polihidroxicoolos ou polióis, como o manitol, sorbitol e dulcitol, formados a partir de glicose, frutose e galactose respectivamente, tanto na folha como no dreno. Oligossacarídeos da família da rafinose também podem ser acumulados ou podem servir de carboidrato de transporte. Estes polióis e oligossacarídeos estão

relacionados com a tolerância à seca e à salinidade, nestes vegetais (MADORE, 1994).

A respiração da fonte e do dreno, que começa com a glicólise, é o consumo de carboidratos e outros compostos para produzir energia, poder redutor e substratos de carbono para os processos de síntese celular (Fig. 6). Este processo consome O_2 , produzindo CO_2 e H_2O . Amido e açúcares são degradados a piruvato pela glicólise, gerando ATP e NADH. Associado à glicólise existe a via das pentoses, que é a oxidação de glicose 6-fosfato a ribose 5-fosfato, gerando também NADH para as reações de síntese de macromoléculas. As pentoses formadas são precursoras de biomoléculas importantes como ATP, CoA, NAD^+ , RNA e DNA. Em geral, há uma maior demanda de NADH do que de pentoses, e neste caso, a ribose 5-fosfato pode ser transformada em gliceraldeído 3-fosfato por uma transcetolase, ou em frutose 6-fosfato por uma transaldolase, criando um retorno para a glicólise e produzindo NADH (STRYER, 1995). O piruvato, produto da glicólise, é convertido a acetil-CoA pela piruvato desidrogenase, na mitocôndria. Nessa organela, o acetil-CoA entra no ciclo do ácido tricarbóxico (também chamado ciclo de Krebs ou ciclo do ácido cítrico), e é metabolizada em ácidos orgânicos, liberando CO_2 e formando NADH.

O NADH e o FADH são oxidados pelo transporte de elétrons mitocondrial, tendo o O_2 como acceptor de elétrons, formando H_2O . O transporte de elétrons é acoplado à fosforilação do ADP, produzindo ATP. O NADH produzido na respiração vai ser usado para as reações de oxiredução que ocorrem na célula, e o ATP para as reações endergônicas, de transporte associado às ATPases e a outros processos, para a respiração de crescimento e de manutenção. Já os compostos intermediários da glicólise, desvio das pentoses e do ciclo de Krebs, podem ser desviados para a síntese dos outros principais componentes celulares (proteínas, nucleotídeos e lipídeos), na respiração de crescimento. A degradação de proteínas e lipídeos também vai gerar os mesmos ácidos orgânicos, que podem ser “respirados” então (LAWLOR, 1993).

Em um dreno de reserva de sacarose, como na beterraba e cana-de-açúcar, esta é acumulada nos vacúolos do dreno, a favor do gradiente no princípio, e contra gradiente no final da maturação, via H^+ -sacarose/ K^+ antiporte, associado à ATPase, do tonoplasto. Já o amido é a principal forma de reserva em cereais, batata e mandioca. Nestes, a sacarose transportada pelo floema pode ser convertida diretamente em amido, como

no grão de trigo, ou ser hidrolisada a hexose antes da síntese do amido, como no grão do milho. Em laranja, uva e abóbora, açúcares são acumulados no dreno de reserva sob a forma de hexoses, sendo precedidos pela ação das invertases. Frutanos com variável grau de polimerização, são acumulados em folhas de cebola, colmos de gramíneas e tubérculos de alcachofra (MILBURN & KALLARACKAL, 1989).

Capítulo 3

BALANÇO DE CARBONO E OS FATORES AMBIENTAIS

Os fatores ambientais que afetam o metabolismo de carbono e, conseqüentemente, a produtividade agrícola em clima tropical são distintos daqueles que ocorrem em clima temperado. Em clima temperado, os estresses ambientais são causados mais freqüentemente por baixas intensidades luminosas e temperaturas baixas que por deficiência hídrica ou de nutrientes (agricultura de alta tecnologia, com insumos), ou por altas temperaturas. Já em nossas condições tropicais, os principais estresses são causados pelos efeitos da seca, da falta de nutrientes e altas temperaturas. O estresse por falta de energia radiante dificilmente ocorre a céu aberto, principalmente para plantas C_3 , que se saturam a baixas intensidades luminosas (600 a 800 $\mu\text{moles quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), enquanto intensidades luminosas acima de 2000 $\mu\text{moles quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, ocorrem com freqüência em clima tropical. Contudo, deve-se ressaltar que na zona tropical há uma redução na radiação solar, quando essa atravessa a atmosfera, principalmente devido à UR % e impurezas sólidas que provocam reflexão da luz. Em regiões úmidas como no Rio de Janeiro há uma redução de até 42% da radiação luminosa, enquanto em Brasília, na época seca do ano, essa redução é de apenas 30%. Portanto, em clima temperado, com menor UR %, as intensidades luminosas podem ser maiores, pois a redução ao atravessar a atmosfera é menor (RIZZINI, 1997). A vantagem da exploração agrícola nos trópicos reside principalmente em fazê-la durante todo o ano, com 3 a 4 cultivos, enquanto em clima temperado isso não ocorre. Portanto, o maior potencial produtivo no mundo está na região tropical (ALVIM, 1962).

Por isso, o ideotipo de planta para uma ou outra região é bastante diferente e o melhoramento vegetal para a agricultura de clima temperado ou de clima tropical não pode ter os mesmos objetivos. O melhoramento vegetal durante a “revolução verde” dos anos 50 e 60, desenvolvido principalmente em clima temperado, tinha por ideotipo de planta um vegetal com alta área foliar para interceptação de luz, poucos e grandes dreno a serem colhidos, sem grande preocupação sobre o desenvolvimento do sistema radicular. Além disto, buscava-se plantas que fossem “responsivas” à aplicação de fertilizantes, isto é, mesmo com altas doses de fertilizantes ainda havia algum aumento de produção. Naquele tempo, achava-se que o petróleo era uma fonte inesgotável de energia e os fertilizantes nitrogenados não faltariam. Hoje nós sabemos que

este tipo de planta poderá alcançar as maiores produtividades sim, mas em um tipo de agricultura de alta tecnologia, com irrigação e muitos insumos, conseqüentemente, de grande investimento.

Para a agricultura tropical, a produção agrícola sobretudo para a alimentação da população destes países “em desenvolvimento” é feita em grande parte por uma agricultura de baixa tecnologia, sem irrigação e com poucos insumos (DUNCAN & BALIGAR, 1990). Em tais condições, aquele ideotipo dos anos 60 tem uma redução brutal de produtividade, pois alta área foliar nos trópicos significa alta superfície de transpiração, não sendo necessário uma grande superfície de captação de energia radiante. Portanto, plantas cultivadas de grande porte e com alta área foliar irão ter uma alta transpiração, e sem a irrigação sofrerão redução na produção, por falta de água. Para a agricultura tropical de baixa tecnologia devemos também buscar plantas com um sistema radicular bem desenvolvido e eficientes no uso (absorção, assimilação e distribuição) de nutrientes (Tab. 6), que se adaptarão mais facilmente aos ambientes encontrados nessa região. O sistema radicular é, para um grande número de culturas, um dreno não colhido e, portanto, consumindo carbono para o seu crescimento sem que seja utilizado pelo homem. Contudo, os benefícios da absorção de água e nutrientes em plantas com um sistema radicular bem desenvolvido, valem o investimento de carbono neste órgão.

O melhoramento vegetal para a agricultura tropical de baixa tecnologia deve buscar um ideotipo com menor porte, mas com maior área foliar específica (área.peso⁻¹ de folha), com maior número de drenos com idades diferentes (com menores perdas sob condições de estresse, podendo, contudo, dificultar a colheita mecanizada), com um sistema radicular desenvolvido, eficiente no uso de nutrientes e adaptada à falta de água e altas temperaturas (DUNCAN & BALIGAR, 1991). Para algumas culturas, os melhoristas estão fazendo cruzamentos com espécies silvestres do mesmo gênero, para recuperar e ampliar o genoma perdido na seleção para alta produtividade dos anos 50 e 60. Os estudos para eficiência no uso de nutrientes, principalmente encontrado em espécies nativas nas regiões tropicais, assim como para adaptação à seca e altas temperaturas, tornam-se imprescindíveis para o aumento da produtividade nessas regiões. Estes objetivos podem ser alcançados, seja pelas técnicas tradicionais de melhoramento, onde temos conseguido alguns avanços, seja pelas técnicas de biologia molecular com transformação de plantas, onde os resultados para aumento de produtividade, em clima tropical, ainda não foram conseguidos. Isto porque a adaptação

Tabela 6. Componentes de variação genotípica para eficiência no uso de nutrientes.

I- Aquisição de nutrientes:

A- Morfologia de raiz (eficiência do sistema radicular):

A.1- Alta relação raiz/parte aérea em condições de deficiência.

A.2- Maior distribuição lateral e vertical de raízes.

A.3- Alta densidade radicular ou área de absorção, mais pelos radiculares, especialmente sob estresse.

B- Eficiência fisiológica de absorção de nutrientes.

C- Geração de redutores e quelantes.

D- Extensão do sistema radicular por associações com micorrizas.

E- Associação com organismos fixadores de N_2 atmosférico.

F- Longevidade de raízes.

H- Habilidade de raízes em modificar a rizosfera para evitar toxidez ou deficiência de nutrientes.

I- Eficiência no transporte radial e no xilema.

II- Distribuição e uso de nutrientes:

A- Capacidade de retranslocação e reutilização de nutrientes, quando em deficiência.

B- Acúmulo de íons no vacúolo e liberação quando sob deficiência.

C- Capacidade quelante de íons no xilema.

D- Taxa de abscisão, de senescência e de hidrólise de fósforo-orgânico.

E- Capacidade de rápida acumulação quando o nutriente está disponível, para posterior uso.

F- Regulação da absorção, distribuição e uso de nutrientes na planta.

G- Capacidade de funcionamento normal sob baixas concentrações de nutrientes no tecido (vegetais nativos de áreas de baixa fertilidade).

H- Troca de nutrientes entre a parte aérea e a raiz, quando sob deficiência.

Adaptado de Duncan & Baligar (1991).

ambiental é em geral uma característica multigênica e essa área de estudos é ainda muito recente. Mas no futuro, poderemos ter melhores resultados.

A disponibilidade hídrica e a temperatura são os fatores climáticos de maior efeito sobre a produtividade agrícola, sendo que estes fatores regem a distribuição das espécies nas diferentes zonas climáticas do globo (TURNER & JONES, 1980). Na zona tropical (América do Sul, África e Ásia), as frequências de baixos índices de precipitação e altas temperaturas é muito maior do que em zona temperada. Tendo em vista que praticamente todos os aspectos do crescimento vegetal são afetados pela temperatura e pela falta de água (HSIAO, 1973, 1990; KRAMER & BOYER, 1995), reduzindo o acúmulo de matéria seca, o efeito destes estresses ambientais sobre a produtividade agrícola em clima tropical é enorme. Sabe-se porém que existe uma variabilidade de adaptações à falta de água e às altas temperaturas entre espécies; e dentro de uma espécie, entre variedades (LUDLOW, 1976). Portanto, deve-se avaliar a adaptação ambiental das variedades de uma espécie, para sua recomendação no zoneamento agrícola.

Associado a estes fatores climáticos, a disponibilidade de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, afeta drasticamente a produtividade e é quase sempre limitante em grande parte da agricultura de zona tropical. Enquanto em zona temperada, a agricultura está causando problemas por excesso de nitrato no lençol freático, na zona tropical, o nitrogênio é um importante fator limitante para a sua agricultura.

Portanto, a produtividade agrícola é afetada por um destes ou a associação destes fatores ambientais, pois em qualquer processo, como a produção agrícola final, que requeira um número de fatores independentes agindo simultaneamente, a intensidade e a velocidade deste processo serão controladas pelo fator que estiver limitante (lei de Blackman).

3.A. FALTA DE ÁGUA E O METABOLISMO DE CARBONO

A habilidade de sobrevivência do vegetal, durante períodos de falta de água, é determinante para a produtividade das plantas cultivadas (FISHER & TURNER, 1978). A suplementação de água à cultura pela irrigação é uma prática que apesar de onerosa, pode proporcionar um aumento significativo de produtividade.

Nos vegetais superiores, uma ligeira falta de água que ocorre até mesmo em plantas irrigadas ao meio-dia, vai causar distúrbios no metabolismo. PFEFFER (1900) já afirmava que uma ligeira diminuição de turgescência

celular, suficiente para causar o fechamento dos estômatos, vai tornar a absorção de dióxido de carbono extremamente difícil, diminuindo sensivelmente a atividade de assimilação de carbono. Por isto, os vegetais vivem o eterno dilema de abrir os estômatos para a entrada do CO₂ mas de fechá-los para evitar a perda de água, porém a tendência é favorecer a assimilação fotossintética (BOYER, 1976). A absorção de água pelas raízes também pode ser afetada por fatores ambientais como baixa disponibilidade de O₂, salinidade, metais pesados e falta de água. Isto porque sabe-se que o transporte de água através da plasmalema não é livre e se dá através de canais de água, que são proteínas de 30 kDa chamadas **aquaporinas**. Estes canais são seletivos para a água, tendo um diâmetro reduzido (0,3 a 0,4 nm), suficientes para a passagem de uma molécula de água (0,28 nm), podem ser fechados por estímulos externos e são dependentes da energia da respiração (STEUDLE & HENZLER, 1995).

Hoje já sabemos que um ligeiro dessecamento do solo, mesmo que ainda não afete as relações hídricas da parte aérea, causará um aumento na concentração de ABA no xilema, provavelmente produzido no meristema sob a coifa das raízes, induzindo na folha o fechamento estomático e a diminuição da expansão foliar (DAVIES et al , 1990). A expansão foliar e a abertura estomática são os processos mais sensíveis à falta de água. Mesmo antes de haver variação no potencial hídrico foliar (Ψ_h da folha), a abertura estomática e expansão celular já são afetados pelo balanço de fitormônios, produzidos na raiz (KRAMER & BOYER, 1995).

Através do controle de estômatos, a planta diminui as suas perdas de água, porém diminui a sua assimilação fotossintética, tendo assim de fazer uso das suas reservas acumuladas anteriormente. Além do efeito da baixa disponibilidade do substrato (CO₂), pelo fechamento dos estômatos, o aparelho fotossintético será afetado por um estresse mais severo (KENNEDY, 1976) (Fig. 13). Devido ao efeito da fotoinibição, que ocorre a nível dos tilacóides, há inibição do PS II, principalmente da fotofosforilação (LUDLOW & POWLES, 1988). A falta de água que também causa uma diminuição na atividade enzimática de regeneração da rubisco, pode ser uma das causas da redução da fotossíntese sob baixo potencial hídrico foliar, e não o suprimento de ATP, segundo GUNASEKERA & BERKOWITZ (1993).

O déficit hídrico, mesmo leve, vai afetar a atividade fotossintética pela diminuição da disponibilidade de CO₂, com o fechamento estomático (HSIAO, 1973). Porém, sobre a superfície de uma folha, formam-se auréolas, um fenômeno chamado “patchyness”, onde algumas áreas mantêm os

estômatos mais abertos (HALL & RAO, 1994), ocorrendo ainda assimilação de CO₂ nessas áreas. Com a restrição da absorção de água, o potencial de turgescência da folha diminui, causando a paralização do crescimento e da biossíntese proteica. Conseqüentemente, há diminuição da atividade de certas enzimas como a redutase do nitrato, que por isto é usada como parâmetro indicador do efeito de estresses ambientais (MAGALHÃES, 1979). O amido de reserva começa a ser hidrolisado por aumento da atividade das amilases, havendo assim, maior acúmulo de carboidratos solúveis, aminoácidos e ácidos orgânicos, que não estarão sendo utilizados na respiração de crescimento e síntese de novos tecidos (HSIAO, 1973). Posteriormente, as proteínas e fosfolipídeos membranares começam a ser hidrolisados pela ação de proteinases, lipases, ribonucleases e outras enzimas hidrolíticas, que são ativadas pelo estresse hídrico. Quando a atividade dessas enzimas é alta, começa a haver ruptura de membranas, ocorrendo a descompartimentalização dos eventos fisiológicos, sem possibilidade de recuperação do vegetal (VIEIRA DA SILVA, 1976; KRAMER & BOYER, 1995). O déficit hídrico severo causará a desestabilização membranares devido ao desacoplamento de proteínas membranares, sob a ação de proteinases, assim como dos lipídeos membranares, sob a ação de lipases ou pela sua oxidação (HALL & RAO, 1994).

A nutrição mineral das plantas também vai ser importante para a resposta do vegetal à imposição da falta de água. Por exemplo, o potássio está envolvido no movimento de estômatos e, junto com os açúcares solúveis, é o maior contribuinte para o ajustamento osmótico. Além disto, o número de cloroplastos por célula, o comprimento celular, e a estabilidade de membranas são maiores em plantas bem supridas em potássio. Maiores suprimentos de potássio em milho podem garantir maior produção durante períodos de falta de água (PREMACHANDRA et al, 1991).

Quanto à associação de um estresse ambiental e nutricional, POWER (1990) mostra que a diminuição em crescimento, resultante de um estresse hídrico e de nitrogênio, são aditivos. Quando um destes fatores é limitante, a adição de um sem o outro traz benefícios limitados à produção. Em plantas de milho bem nutridas em N, a zona de alongação (em parte aérea e raiz) tem uma atividade superior de sacarose sintase e invertase neutra, e as folhas na sua expansão máxima possuem níveis mais elevados de PEP-case e rubisco e, conseqüentemente, com maior e mais duradoura capacidade para fotossíntese e translocação (HUBER et al, 1989), aumentando a disponibilidade de assimilados e a tolerância à seca. A irrigação e a aplicação de N aumentam a

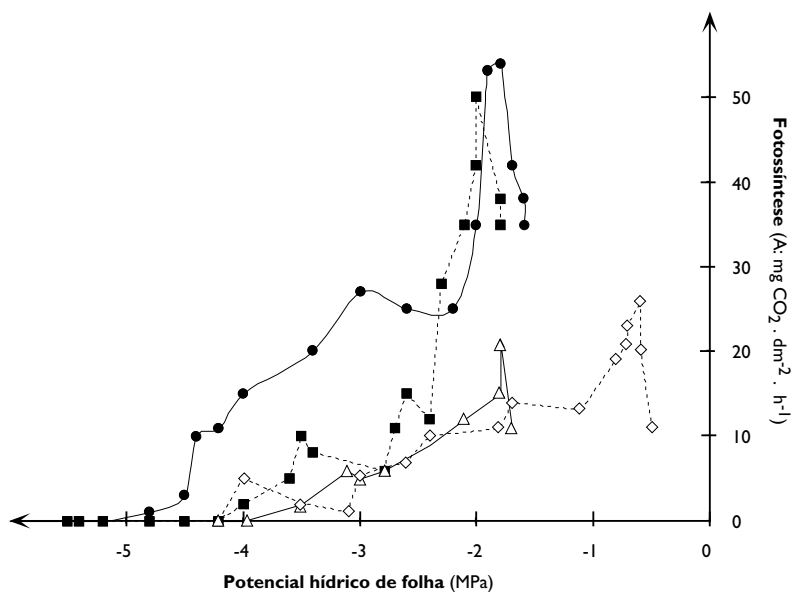


FIGURA 13. Efeito da falta de água e salinização na atividade fotossintética de *Atriplex halimus*, uma planta C_4 halófito, com adição (●) ou sem adição de NaCl (■), na solução nutritiva; e de *Atriplex hortensis*, uma planta C_3 glicófito, com adição (Δ) ou sem adição de NaCl (◇). Pimentel (1985).

produtividade de grãos, porém diminuem a qualidade proteica destes, em milho normal e Opaco-2 (KNIEP & MASON, 1991).

A absorção do fósforo é inibida pelo estresse (DOVE, 1969) e na maioria dos solos a maior fração de P existe em formas inorgânicas, que são dependentes de sua solubilização pela água. Plantas de sorgo micorrizadas (VAM), exploram um maior volume de solo, absorvem mais fósforo, e são mais tolerantes à seca (POWER, 1990).

Outro ponto a ser destacado é o efeito da falta de água nos diferentes estádios de desenvolvimento. O vegetal na forma de semente apresenta sua maior adaptação à seca, podendo ter uma umidade de apenas 10% e, com a hidratação, continuar seu ciclo. O efeito da falta d'água é importante nas fases de instalação da plântula por não ter ainda seu sistema radicular desenvolvido, mas sobretudo, por causar grande efeito na produtividade quando ocorre no período reprodutivo, principalmente na antese (WESTGATE & GRANT, 1989). A maior parte da produção agrícola é de órgãos reprodutivos (78% nos USA), com grãos, frutas e olerícolas, tendo portanto sua produção afetada pela falta de água neste período.

Os estádios de pré-floração e início da floração são os mais sensíveis, não pelo efeito do estresse na fecundação, mas devido à redução da atividade fotossintética das folhas neste período, causando paralização no desenvolvimento do embrião na semente (KRAMER & BOYER, 1995). A planta necessita acumular um nível mínimo crítico de fotoassimilados na folha para iniciar o processo de desenvolvimento dos órgãos reprodutivos (WARDLAW, 1990). Por isso, no feijoeiro por exemplo, as vagens produzidas são oriundas das primeiras flores formadas (SILVEIRA et al. 1980). As últimas flores formadas abortam pela falta de fotoassimilados oriundos das folhas para garantir o crescimento e enchimento das vagens. Qualquer fator ambiental estressante, como falta de água ou altas temperaturas, aumentarão o aborto de flores.

3.A.1. Eficiência no uso de água

Com a abertura estomática para a aquisição de CO₂, H₂O é inevitavelmente perdida. As plantas CAM e C₄, como já visto, de uma forma geral em condições de suprimento de água adequado, apresentam maior eficiência no uso de água (E.U.A.) do que as C₃, pois podem ter os estômatos mais fechados, mantendo sua assimilação de CO₂ e perdendo menos água (MAGALHÃES, 1979). Porém, deve-se ressaltar que existem

muitas plantas C_3 de regiões de clima árido, com grande controle estomático e conseqüente alta E.U.A. Além de existir uma variabilidade de E.U.A. entre espécies isto ocorre também dentro da espécie, e pode ser um parâmetro fisiológico associado a outros, como o desenvolvimento do sistema radicular, a ser usado no melhoramento vegetal tropical. A maior E.U.A. das plantas não garante por si só maior adaptação à seca, como já visto anteriormente (OSMOND et al, 1982).

O conteúdo hídrico da planta é resultado do balanço das taxas de absorção e de perda de água (transpiração). O primeiro fator está fora de controle instantâneo, sendo dependente do sistema radicular da planta e de características físicas e suprimento hídrico do solo. O segundo fator, controle da transpiração, pode ser feito em um tempo de 10^2 a 10^4 segundos e em maior ou menor escala, dependendo do vegetal (PUGNAIRE et al., 1994.). A transpiração é proporcional ao déficit de pressão de vapor de água na atmosfera. O controle da transpiração é feito pelo fechamento estomático, que é o único processo no continuum solo-planta-atmosfera que possui essa resposta instantânea. Porém, como tal controle está diretamente associado ao suprimento de CO_2 à folha, a condutância estomática deve variar ao longo do tempo, de forma a haver um mínimo de perdas de água para uma máxima assimilação de CO_2 (KRAMER & BOYER, 1995). Assim é o dilema dos vegetais, que devem fechar os estômatos para evitar as perdas de água e abri-los para a assimilação de CO_2 .

WHITE et al. (1990), demonstram que existe uma estreita correlação entre a variação na taxa de assimilação de CO_2 e a densidade do sistema radicular do feijoeiro, na resposta à falta de água. OSMOND et al. (1980) propõem que a seleção de plantas tolerantes à seca, principalmente em plantas C_3 sensíveis à falta de água, deve buscar plantas que mantenham a atividade fotossintética alta, com baixa condutância estomática, para reduzir as perdas de água por transpiração (eficiência intrínseca no uso de água: E.I.U.A = atividade fotossintética/condutância estomática) (Fig. 14).

A absorção contínua de água é essencial ao crescimento e desenvolvimento vegetal, pois a maioria das plantas em clima tropical chega a perder mais do que seu próprio peso em água, por dia, em certas condições. Somente algumas plantas xeromórficas, como os cactus, com baixa transpiração e alta capacidade de estocagem de água, podem sobreviver sem imediata reposição da água perdida (OSMOND et al., 1982). Portanto, a absorção e uso de água têm uma importância capital em clima tropical.

Por isto, as avaliações do sistema radicular e de sua eficiência na absorção devem ser feitas e poderão trazer ganhos de produtividade. A eficiência do sistema radicular em absorver água e nutrientes depende de sua profundidade, volume, densidade, profusão de pelos radiculares, longevidade (Tab. 6), e outros atributos como a condutividade hidráulica da planta. Por exemplo, o arroz de sequeiro tem um sistema radicular maior que o arroz irrigado e o crescimento radicular em detrimento da parte aérea é desejável, sob cultivo de sequeiro. Além destes atributos morfológicos, a eficiência dos sistemas de absorção, de assimilação e de distribuição dos nutrientes pela planta deve ser buscada pelo melhoramento. A capacidade do vegetal em redistribuir estes nutrientes, por hidrólise de macromoléculas em tecidos mais velhos, para suprir as necessidades de órgãos jovens e sobretudo do órgão a ser colhido é determinante também para a agricultura de baixa tecnologia em clima tropical (DUNCAN & BALIGAR, 1991).

Além dos fatores ambientais discutidos aqui, deve-se salientar que o desenvolvimento do sistema radicular é extremamente plástico, dependendo das características do solo onde a planta se desenvolve, como a resistência à penetração, aeração, pH baixo e excesso de elementos tóxicos como o Al^{3+} , assim como de substâncias tóxicas produzidas por plantas competidoras (alelopatia, produzindo ácidos cumárico e ferúlico) (KRAMER & BOYER, 1995).

A eficiência no uso de água é de grande importância para a sobrevivência em condições de baixa disponibilidade hídrica e, segundo PASSIOURA (1986), o rendimento de uma cultura é proporcional ao volume de água transpirada, durante o ciclo, multiplicado pela eficiência no uso de água e pelo índice de colheita. Portanto este é um parâmetro indicador para adaptação à falta de água. Em função da evapotranspiração local da cultura, por uma equação de 1º grau, podemos calcular a produtividade daquela cultura, o que já é feito há muito tempo em Israel (ARNON, 1975). Por exemplo para o milho, segundo HARGROVE (1988):

no deserto de Negev, Israel, o rendimento = $(4,1 \times ET) - 7179$;

no Texas, USA, o rendimento = $(24,1 \times ET) - 8332$;

e na Flórida, USA, o rendimento = $(66,1 \times ET) - 22900$;

onde ET é a evapotranspiração real da cultura, durante o ciclo da planta.

Portanto, a determinação da evapotranspiração e do balanço hídrico para as regiões produtoras é primordial para que se faça o zoneamento agrícola e a previsão da produtividade para a cultura em cada região, como já foi feito para o estado de São Paulo (CAMARGO, 1962).

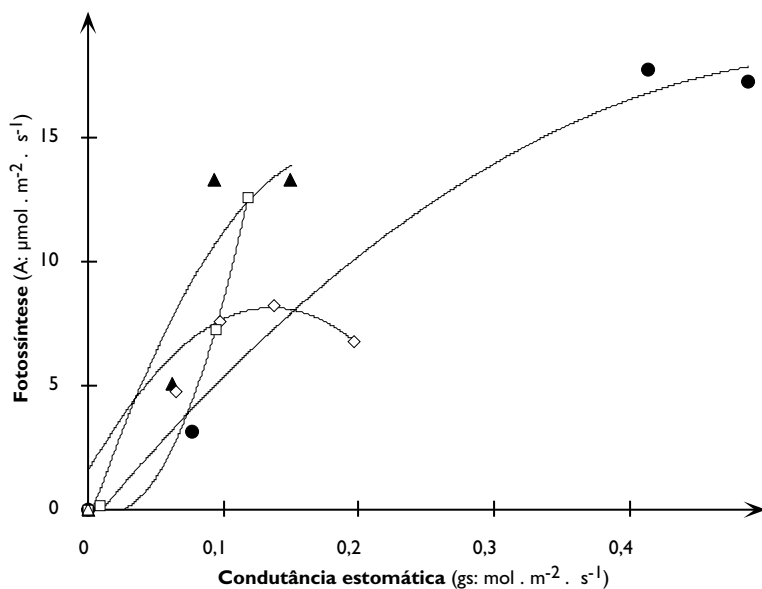


FIGURA 14. Eficiência intrínseca no uso de água (E.I.U.A.), que é a relação entre a taxa de assimilação de CO_2 (A) e a condutância estomática (gs), na folha mais jovem com máxima expansão foliar, em quatro genótipos de feijão, sob falta de água com 39 DAP: (●) SC-9029883; r^2 : 0,99, (▲) carioca; r^2 : 0,89, (◇) ouro negro; r^2 : 0,99, and (□) A320; r^2 : 0,99. Pimentel et al. (1995).

3.A.2. Adaptação à seca e zoneamento agrícola

Existe uma grande variação da sensibilidade fotossintética à seca entre as espécies. Por exemplo, *Vigna unguiculata* tem sua fotossíntese anulada a um Ψ_h em torno de -2,5 MPa, enquanto em *Phaseolus vulgaris*, essa se anula com valores de -1,2 a -1,5 MPa de Ψ_h . O primeiro, o feijão caupi (de corda, macassar, etc...), é mais cultivado na região semi-árida do nordeste brasileiro e o feijão comum, o segundo, na região tropical úmida. Inclusive, o hábito alimentar da população de cada região varia em função da adaptação das culturas, e que, conseqüentemente, podem produzir satisfatoriamente no local. O milho, *Zea mays*, tem sua taxa de assimilação de CO_2 anulada a valores de Ψ_h em torno de -2,5 MPa, enquanto *Sorghum bicolor* ou *Pennisetum glaucum*, tem a fotossíntese anulada valores abaixo de -3,0 MPa de Ψ_h . Portanto em regiões áridas, estes dois últimos são mais indicados que o milho. O *Pennisetum glaucum*, conhecido como milheto, tem como principal mecanismo de adaptação à seca o de escape, instalando-se rapidamente no terreno e encurtando seu ciclo, não havendo mais chuvas. Na região do Sahel africano, essa espécie é muito cultivada para a alimentação humana com os grãos, e para o gado, com o restante da parte aérea. Outros vegetais como *Beta vulgaris*, *Acacia harpophylla* e *Atriplex nummularia* têm sua assimilação fotossintética anulada somente com um Ψ_h menor que -6,0 MPa (BOYER, 1976; PIMENTEL, 1985).

A variação na sensibilidade dos vegetais ao déficit hídrico ocorre devido a diferentes mecanismos de adaptação à seca, e em diferentes intensidades. De uma forma geral a adaptação a um estresse ambiental tem um custo energético para a planta, em detrimento da produtividade (HSIAO, 1973; 1990). Muitas vezes as plantas mais tolerantes têm menor produtividade do que uma sensível (PIMENTEL et al., 1990). Os mecanismos de adaptação à seca são classificados em 3 tipos, segundo SUBBARAO et al. (1995): 1) **os de escape**, como encurtamento do ciclo, perda de folhas, mudanças no ângulo de folhas, enrolamento de folhas e xeromorfismo; 2) **os de evitamento**, como controle da abertura estomática, enraizamento profundo e o metabolismo CAM; e 3) **os de tolerância**, propriamente dita, como ajustamento osmótico e tolerância membranas (devido à sua composição, principalmente do tipo de fosfolipídeos, essa pode ser menos sensível ao ataque de enzimas induzidas pelo estresse).

Alguns vegetais cultivados, principalmente as gramíneas, fazem um ajustamento osmótico, abaixando o seu potencial hídrico para retirar água do solo (MORGAN, 1984). Entre elas, o sorgo é mais eficiente no ajustamento osmótico do que o milho ou o milheto, por exemplo. As leguminosas

cultivadas, de uma maneira geral, não fazem ajustamento osmótico e a manutenção do seu status hídrico se faz principalmente pelo controle da abertura estomática e eficiência de absorção de água pelo seu sistema radicular. O amendoim e o feijão guandú fazem ajuste osmótico, e portanto, são mais adaptadas à seca que outras leguminosas anuais. Com o ajustamento osmótico, a planta extrai mais água do solo e perde menos água para a atmosfera, podendo manter seus estômatos um pouco mais abertos, para realizar a assimilação de CO₂. Contudo, a velocidade de imposição do estresse é importante, assim como a sua duração, pois se o abaixamento do potencial hídrico for superior a - 1,0 MPa por dia, a planta não consegue se ajustar osmoticamente (HANSON & HITZ, 1982). O fenômeno do ajustamento osmótico é variável entre espécies e entre variedades de uma espécie (MORGAN, 1984). Porém, é importante ressaltar que o grau de ajuste osmótico varia em função do ajuste da extensibilidade de parede, e deve-se avaliar a relação entre o Ψ_h e o conteúdo hídrico relativo para estudar-se o fenômeno.

Os solutos acumulados durante o ajustamento osmótico sob falta de água, funcionam como: osmoticum, proteção dos sistemas enzimas/membranas, acumulação de N não tóxico, e o carbono e o nitrogênio assim utilizados poderão ser reaproveitados prontamente, após à reidratação, para a produção de biomassa (McCree et al., 1984). Os solutos responsáveis por este ajustamento compreendem: íons inorgânicos (K⁺, NO₃⁻, Cl⁻, SO₄⁼, etc...), ácidos orgânicos (malato, aspartato, etc...), carboidratos solúveis (sacarose, frutose e glicose), e os aminoácidos livres (prolina, glutamina, etc...) (HANSON & HITZ, 1982).

Em qualquer programa de melhoramento para adaptação à seca, além dos mecanismos citados acima, é importante a avaliação da capacidade do vegetal em promover crescimento do sistema radicular em detrimento da parte aérea. Isto dará mais chances ao vegetal de sobreviver sob deficiência hídrica (com maior superfície de absorção de água e menor superfície de transpiração) do que o vegetal que, sob falta de água, continue a investir no crescimento da parte aérea, com maior consumo do suprimento de água (PASSIOURA, 1986). Devemos ressaltar que a adaptação à seca é uma característica multigênica, isto é, o vegetal tem um conjunto de respostas fisiológicas que lhe conferem a adaptação, controlados por genes distintos e que interagem. Isto dificulta a manipulação genética para obtenção de plantas transgênicas tolerantes (BRAY, 1993). Em um programa de melhoramento vegetal, deve-se, portanto, avaliar diversos parâmetros fisiológicos para se conseguir avanços na seleção de plantas tolerantes.

No Brasil, estudos sobre as relações hídricas já vêm sendo desenvolvidos desde as décadas de 50 e 60, sendo que FERRI (1944) já havia realizado um estudo sobre a transpiração de plantas do cerrado. ALVIM & ARAÚJO (1952) associaram a característica de xeromorfismo dessas plantas de cerrado, com o tipo de clima e solo da região e FERRI (1955) correlaciona a restrição a perda de água no período de maior déficit de saturação de água, ao controle estomático. OLIVEIRA & LABOURIAU (1961) estudaram o comportamento de espécies da caatinga brasileira, cultivadas no Rio de Janeiro com alta UR%. Em tais condições, a espécie de folhas decíduas não teve a queda dessas folhas, e algumas espécies só apresentaram fechamento estomático entre 11 e 13 h, período de maior déficit de saturação de água. Os mecanismos de adaptação à seca não se expressaram nas condições de boa hidratação. Posteriormente, FRANCO & MAGALHÃES (1963) fizeram uma crítica ao método de pesagens para avaliar a transpiração. Mais recentemente, RENA & MASCIOTTI (1976) utilizaram a dosagem de prolina como indicador de tolerância à seca, em cultivares de feijão. CASTRO & MALAVOLTA (1977) verificaram que a aplicação de giberelina causou aumento da transpiração, com redução do Ψ_h foliar, em tomate. Já OLIVA et al. (1984) avaliaram a adaptação à falta de água, em espécies de *Eucalyptus*, com o uso da termometria infravermelha. Atualmente, um grande número de laboratórios se dedicam aos estudos sobre a adaptação à seca, no Brasil.

Em 1963 iniciou-se um programa de melhoramento para tolerância à seca, MIRANDA (1972) introduziu o caráter “latente”, através de cruzamentos, em linhagens de milho IAC Maya e IAC-1. Este caráter “latente” confere adaptação à seca e à geadas, através de uma redução drástica do crescimento sob condições de estresse, e quando sob condições adequadas, restabelecem o crescimento. O autor sugere que a tolerância à seca e à geadas poderiam ser expressões fenotípicas do mesmo complexo genético.

Este caráter “latente” confere também eficiente controle estomático, segundo PATERNIANI (1990). Segundo este autor, a planta de milho com tolerância à seca deve apresentar, além das características propostas por MOCK & PEARCE (1975), este caráter “latente”, pendão masculino pequeno, intervalo entre a floração masculina e feminina curto, e prolificidade.

3.A.3. Uso da irrigação e salinização do solo

O uso da irrigação no mundo expandiu-se enormemente a partir dos anos 50, com 95 milhões de ha, até a década de 80, com mais de 250 milhões de

ha atualmente. Hoje, as terras irrigadas representam em torno de 18% das terras cultivadas, mas são responsáveis pela produção de mais de um terço dos alimentos no mundo. A expansão do uso da irrigação no mundo diminuiu devido ao custo da energia para o sistema, e da diminuição dos preços dos produtos. Contudo, em países em desenvolvimento, a expansão de áreas irrigadas continua aumentando a taxa de 2%.ano⁻¹, sobretudo devido às inovações tecnológicas, como: a aplicação de água e nutrientes sob alta frequência e baixo volume; determinação da necessidade da cultura em função dos estádios de desenvolvimento da planta e fatores ambientais locais, utilização de sistemas permanentes de distribuição de água mais baratos e duráveis, diminuindo o desperdício de água e as necessidades de drenagem. Isto porque a água constitui a maior limitação para aumento de produtividade em nosso mundo faminto, não podendo haver desperdícios (HILLEL, 1990).

A primeira análise compreensiva da relação entre a transpiração e a produtividade foi feita por de WIT(1958), que propôs a fórmula:

$$R = m(Ta/Eo),$$

onde R é a produtividade, m é o coeficiente de proporcionalidade, Ta é a transpiração atual e, Eo é a evapotranspiração potencial.

Essa formulação foi aprimorada por DOORENBOS & KASSAM (1979), levando-se em conta a evapotranspiração :

$$1 - (R/R_{\text{máx}}) = f[1 - (Ea/Eo)],$$

onde R é o rendimento atual, R máx o rendimento máximo, quando não há falta de água, f é um fator de resposta de produtividade, Ea é a evapotranspiração atual e Eo é a evapotranspiração potencial.

Essa equação mostra a importância da disponibilidade e do movimento de água no sistema solo-planta-atmosfera para a caracterização da produtividade em função das condições ambientais.

Os modernos sistemas de irrigação devem levar em conta o chamado continuum solo-planta-atmosfera, analisando as características e monitorando o status hídrico de cada uma dessas partes, utilizando instalações permanentes por sulcos ou com aspersores de baixa intensidade, gotejadores, tubulações porosas, etc... Este monitoramento fica mais fácil com a aplicação de água com maior frequência e menor volume, diminuindo o desperdício de água drenada, a erosão, a salinização e a propagação de doenças (nas folhas molhadas), levando ao aumento de produtividade. Em contraste, os sistemas tradicionais, caros, de baixa frequência e alto volume têm uma distribuição de água mais eficiente e uniforme, mas podem provocar os diversos problemas citados acima, causando diminuição da produtividade, se não forem bem manejados (KRUSE et al, 1990).

Provavelmente, a maior causa de diminuição da produtividade sob irrigação é a salinização em regiões áridas e semiáridas, ou em períodos do ano com alta evapotranspiração, em outras regiões. Nessas condições, os problemas com a drenagem de águas salinizadas são grandes, como ocorreu na Califórnia, já no início do uso da irrigação em 1870. Em 1900, áreas extensas nessa região haviam sido abandonadas devido à problemas de salinização do solo (HILLEL, 1990).

Cerca de 10% da superfície arável da terra é composta por solos salinos, e a porcentagem de terras irrigadas afetadas pela salinidade já chega a 50%, perfazendo um total de 325 milhões de ha salinizados. Historicamente a salinização do solo contribuiu para a decadência de várias civilizações antigas. Mesmo com tecnologias avançadas de manejo de irrigação, a salinização de solos nos USA continua a diminuir a produtividade agrícola. A salinidade afeta a cultura de diversas maneiras: pelo abaixamento do potencial osmótico do solo, que diminui a disponibilidade de água para a planta; pela deteriorização da estrutura física do solo, com a substituição do Ca^{+2} pelo Na^{+} ; pela toxidez causada pelo íon, e pela inibição dos processos biológicos de mineralização e nitrificação no solo. A salinização do solo ocorre em geral pela falta de avaliação da qualidade da água de irrigação. Em regiões de alta evaporação, há um acúmulo de sais nos mananciais de água e conseqüente concentração destes, fazendo com que essa água tenha uma alta condutividade elétrica (ver tabelas de qualidade da água, determinadas pela FAO-DOORENBOS & PRUIT, 1977), sendo considerada, com frequência, imprópria para a irrigação (POLJAKOFF-MAYBER & LERNER, 1994).

Em solos salinizados pela irrigação com água imprópria, algumas medidas agrônômicas são recomendadas (com resultados a longo prazo), segundo FRANCOIS & MAAS (1994): 1) Em solos sódicos, a aplicação de gesso agrícola (CaSO_4) ou ácido sulfúrico e outros ácidos (aplicados na água de irrigação, para reagir com o CaCO_3 do solo, liberando Ca^{+2}), para deslocar o Na^{+} e melhorar as condições físicas do solo; 2) apesar da salinização causar deficiência de nutrientes, não devem ser aplicadas altas doses de fertilizantes, que podem agravar a inibição do crescimento vegetal, pelos sais; 3) para o manejo da irrigação, deve-se fazer drenagem correta do solo e não deve ser aplicada água continuamente e em excesso, pois com a baixa aeração e estruturação do solo, haverá problemas de encharcamento, assim como a lixiviação de nutrientes. Em um primeiro tempo, a água pode ser aplicada em excesso para promover a máxima lixiviação dos sais, mas durante o cultivo não. A água aplicada deve ser a menos salina possível, e o ideal é aumentar a

eficiência da irrigação durante o cultivo, para reduzir a quantidade de água infiltrada que passa pelo sistema radicular, em percolação profunda, mantendo a disponibilidade de água na zona radicular; 4) os sistemas de irrigação por aspersores, utilizando água salina, provocam queimaduras de folha. Os sistemas por gotejamento, aplicando água localizada sobre o sistema radicular, promovem a lixiviação destes sais na zona radicular, criando uma zona menos salina em torno das raízes. A frequência de irrigação deve ser a mais alta para aquele solo; 5) o plantio deve ser feito em sulcos rasos (os sais vão se acumular na parte alta, do lado da linha de plantas), ou em camaleões, plantando-se lateralmente (os sais vão se acumular no topo). A aplicação de cobertura morta diminui a evaporação de água do solo; e 6) explorar culturas de vegetais mais tolerantes à salinidade (Tab. 7).

A paralização do crescimento vegetal devido ao estresse salino ou por falta de água são similares, pois ambos causam queda no potencial hídrico do solo, diminuindo o crescimento da planta. No estresse salino, além do efeito sobre o status hídrico da planta, há um efeito tóxico devido aos altos níveis de Na^{+1} (os principais sais encontrados são NaCl e Na_2SO_4), causando distúrbios no metabolismo do Ca^{+2} , na integridade membranar e nos processos de fosforilação. Da mesma forma, os mecanismos de adaptação das plantas ao estresse salino são semelhantes aos da falta de água (que ocorre no estresse salino, mesmo no solo com conteúdo hídrico alto), sendo o principal deles o ajustamento osmótico que permitirá a extração de água do solo (este mecanismo é obrigatório para vegetais marinhos). Além do ajustamento osmótico, existem outros mecanismos de tolerância à salinidade, como a habilidade em acumular, excluir e compartimentalizar íons seletivamente no vacúolo e na base de tricomas excretores de sais nas folhas; o controle da absorção destes íons pelas raízes e do transporte para a parte aérea; e o uso dos íons acumulados para o ajustamento osmótico, com a acumulação de solutos compatíveis com estes íons (ácidos orgânicos do ciclo de Krebs) (PASSIOURA, 1986).

Essas características, que conferem tolerância à salinidade estão, em geral, associadas a características morfológicas, que poderiam ser chamadas de mecanismos de evitamento. A pubescência de folha, por exemplo, diminuindo as perdas de água e, no caso de tricomas excretores, eliminando sais sobre a superfície das folhas e criando uma camada que causa a reflexão de luz e retenção de água, como no caso de *Atriplex nummularia* e de *Atriplex halimus*, ambas halófitas (PIMENTEL, 1985). O enrolamento e a suculência de folhas, assim como o metabolismo CAM, também evitam os efeitos da salinidade.

Plantas halófitas são aquelas que necessitam da presença de sais para expressar o seu máximo crescimento e produtividade. Sem estes, a sua atividade fotossintética e crescimento são reduzidos, enquanto plantas glicófitas, que não precisam de sais, podem ser tolerantes à salinidade, porém só expressarão seu máximo crescimento e produtividade na ausência de sais. Algumas halófitas facultativas ou transitórias podem se desenvolver em condições não salinas, mas outras necessitam da presença de sais (acima de 1,5% de NaCl) para germinar, como em *Salicornia* spp (POLJAKOFF-MAYBER & LERNER, 1994). Na Fig. 13, *Atriplex halimus*, uma halófito verdadeira apresenta maior taxa fotossintética com a adição de NaCl, mantendo-a durante o abaixamento do potencial hídrico de folha, causado por um estresse hídrico, até um valor inferior ao das plantas sem NaCl. Os vegetais que são sensíveis à salinidade são chamados glicófitas, como na Fig.13, *Atriplex hortensis*, que tem a fotossíntese reduzida e se torna mais sensível à falta de água, com a adição de NaCl. Existe uma variabilidade na tolerância à salinidade (Tab. 7) e certas plantas, que são apenas moderadamente tolerantes, como é o caso de *Cocos nucifera* L. (POLJAKOFF-MAYBER & LERNER, 1994), são muitas vezes consideradas, erroneamente, halófitas. Nessas espécies a adição de NaCl causa redução na sua produtividade. O coqueiro tem alta demanda por Cl⁻, que deve ser adicionado na forma de KCl. Em função dessa variabilidade de tolerância a salinidade, em regiões com alta evapotranspiração, com mananciais de água pouco própria para a irrigação, assim como na exploração agrícola de áreas salinizadas pelo homem, esta deve ser feita com espécies que sejam mais tolerantes à salinidade.

3.B. Temperaturas altas e o metabolismo de carbono

Na região tropical com períodos seco e chuvoso determinados, as temperaturas médias atingem 33°C no final do período chuvoso, e as máximas chegam a 45°C. A maioria das culturas tropicais tem uma temperatura ótima entre 25 e 35°C, o que permite obter-se boa produtividade em clima tropical. Variações maiores de temperatura são obtidas em altitude, com um abaixamento de 0,65°C.100 m⁻¹ na temperatura mínima, o que reduz sensivelmente a temperatura média, retardando o desenvolvimento vegetal. Porém, nessas condições de altitude, a temperatura média noturna mais baixa pode ter um efeito positivo no metabolismo vegetal, se estiver na faixa adequada para o crescimento da cultura. Este efeito ocorre pelo aumento da eficiência da respiração noturna para o crescimento, quando comparada a

Tabela 7. Tolerância a salinidade em culturas (glicófitas).

ESPÉCIE	CE limite (dS. m⁻¹)
I - Grandes culturas:	
<i>Hordeum vulgare</i> L.	8,0 (T)*
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	7,7 (T)
<i>Glycine max</i> L.	6,8 (MT)
<i>Vigna unguiculata</i> L.	4,9 (MS)
<i>Arachis hypogea</i> L.	3,2 (MS)
<i>Saccharum officinarum</i> L.	1,7 (MS)
<i>Zea mays</i> L.	1,7 (MS)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1,0 (S)
II - Olericultura:	
<i>Beta vulgaris</i> L.	7,0 (T)
<i>Spinacia oleracea</i> L.	5,7 (T)
<i>Cucurbita pepo</i> L.	3,2 (MT)
<i>Lycopersicon lycopersicum</i> L.	2,5 (MS)
<i>Allium cepa</i> L.	1,2 (S)
<i>Solanum melongena</i> L.	1,1 (S)
<i>Daucus carota</i> L.	1,0 (S)
III - Fruticultura:	
<i>Phoenix dactylifera</i> L.	4,0 (T)
<i>Cocus nucifera</i> L.	_ (MT)
<i>Vitis vinifera</i> L.	1,5 (MS)
<i>Citrus sinensis</i> L.	1,3 (S)

Dados de Francois & Maas (1994). * (T): tolerante; (MT): moderadamente tolerante; (MS): moderadamente sensível; e (S): sensível.

ambientes com temperaturas noturnas muito altas, onde a eficiência do processo é menor (NORMAN et al., 1995). O processo de oxidação de glicose produzindo energia estocada sob a forma de ATP, tem uma eficiência cerca de 42%. O restante da energia produzida nessa oxidação é perdida sob a forma de calor. Este rendimento pode ser menor sob altas temperaturas (LÜTTGE, 1996). As baixas temperaturas parecem afetar o metabolismo das raízes e a produção de citocininas, giberelinas e ABA, que em milho tem suas exportações máximas a 28°C para os dois primeiros, e a 18°C para o terceiro. A redução da exportação destes fitormônios vai diminuir o crescimento da parte aérea (POLJAKOFF-MAYBER & LERNER, 1994).

Se a temperatura média do dia estiver na faixa ótima para a cultura, serão obtidas as maiores produtividades nessas condições de altitude. Por exemplo, para o milho as maiores produtividades são obtidas em altitudes de 1500 a 2000 m, com temperaturas diurnas de 30 a 33°C e com temperaturas noturnas abaixo de 25°C. Contudo, a taxa de desenvolvimento de qualquer cultura (a progressão ao longo do ciclo da planta) é positivamente relacionada com a temperatura e o desenvolvimento é mais lento em altitude, devido às temperaturas mais baixas. Com o ciclo estendido em altitude, sob temperaturas médias adequadas, obtém-se maiores rendimentos do que em baixas altitudes, porém podem ser feitos menos cultivos no ano agrícola. Em Java por exemplo, o arroz leva 90 a 100 dias do transplante a maturação e 3 cultivos são possíveis por ano ao nível do mar, enquanto em altitude de 1600m, a mesma cultivar tem um ciclo de 220 dias e somente um cultivo por ano é possível (NORMAN et al., 1995). A temperatura do dossel e do solo afeta as relações fonte/dreno da planta, principalmente nos drenos reprodutivos. A matéria seca total da planta é pouco afetada, mas a sua distribuição nos diferentes drenos é modificada. Em algodão, o regime termal de 30/20°C permite uma acumulação de matéria seca no capulho pelo menos 3 vezes maior do que nos regimes 25/15°C ou 35/25°C (MARSCHNER, 1995).

3.B.1. Efeitos de temperaturas altas no balanço de carbono

O termo estresse por altas temperaturas nos leva a pensar em seres termofílicos que habitam certas fontes termais ou nos vegetais de deserto, que sobrevivem a temperaturas acima de 50°C. Porém, plantas em clima tropical são comumente submetidas a estresses térmicos por algum tempo, em geral, sob temperaturas acima de 40°C, tendo o seu crescimento reduzido. Isto

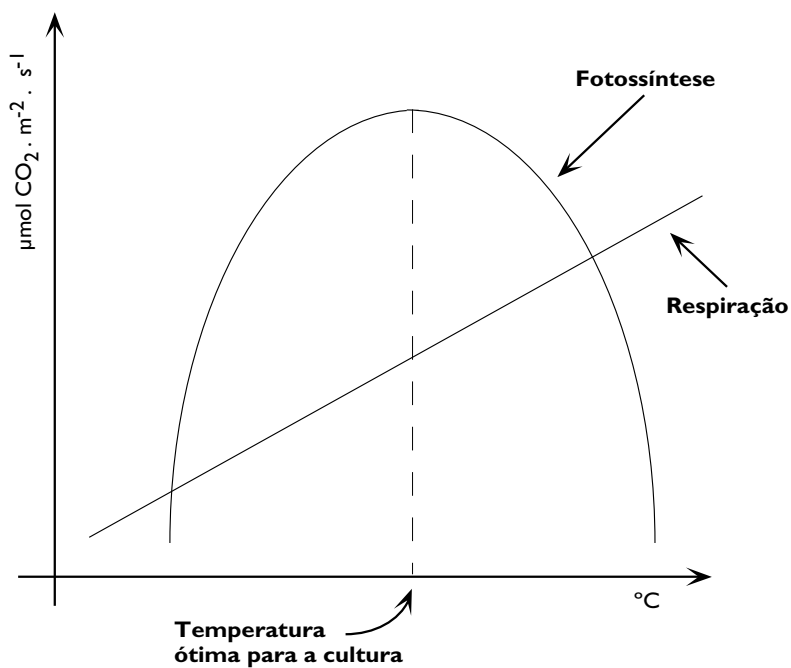


FIGURA 15. Efeito do aumento da temperatura sobre a atividade fotossintética e a atividade respiratória. Adaptado de White (1985).

porque processos biológicos básicos como a fotossíntese e a respiração são diretamente afetados pela temperatura, porém de forma distinta (Fig.15) (WHITE, 1985; RITCHER, 1993). Para a fotossíntese, com o aumento a partir de baixas temperaturas, há também um aumento da atividade fotossintética até à temperatura ótima da cultura (plantas C_3 , entre 20 e 30°C e plantas C_4 , de 30 a 35°C), decrescendo rapidamente após. Já a respiração aumenta com a temperatura, até o ponto em que as altas temperaturas causem injúrias ao protoplasma e o aumento da respiração não produz mais um aumento no crescimento. As altas temperaturas vão causar inativação de enzimas e das membranas celulares. A cessação da atividade fotossintética pelas altas temperaturas ocorre antes que outros sintomas surjam, levando a crer que o efeito seja maior sobre a atividade das enzimas do aparato fotossintético (BJÖRKMAN et al., 1980), sendo os fotossistemas menos sensíveis (RITCHER, 1993). A abertura estomática, ao contrário do efeito da falta de água, é pouco afetada pelas altas temperaturas, o efeito maior é sobre a ultraestrutura cloroplástica, ativando a senescência e a ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas (STARCK et al., 1993).

O estresse térmico por altas temperaturas (por exemplo, 40°C por 4 horas) resulta em inibição da fotossíntese e inativação de enzimas como a catalase, por exemplo, além de causar a inibição da síntese proteica de uma maneira geral, diminuindo assim a atividade de enzimas, como a PEP-case e a rubisco (GHOSH et al., 1989). A atividade fotorrespiratória é aumentada por altas temperaturas, e como as catalases são desativadas nessas temperaturas, há um acúmulo de peróxido de hidrogênio, causando efeitos deletérios em substâncias vitais para o metabolismo, como nas clorofilas e nas vias de transdução de sinais. Plantas de tabaco com maior atividade de catalases são mais tolerantes ao estresse térmico (WILLEKENS et al., 1995). Sobre a respiração, a temperatura tem também um efeito significativo pois é um processo com Q_{10} em torno de 2,0, sendo aumentada linearmente com a temperatura (Fig. 15) (BRYCE & THORNTON, 1996).

Além destes efeitos no metabolismo, durante o início da fase reprodutiva em milho, as altas temperaturas causam a paralização do crescimento e do desenvolvimento do grão, provavelmente pela supressão de fotoassimilados, mas também devido a um desbalanço hormonal, com redução dos teores de citocininas do grão. A manutenção de altos níveis de citocininas no grão conferem termotolerância (CHEIKH & JONES, 1994). As altas temperaturas também causam redução na divisão celular e esse efeito pode estar ligado a sua ação sobre as poliaminas, que são indutoras da divisão

celular. Sob altas temperaturas ocorreria redução na concentração dessas poliaminas, afetando a divisão celular, mas a adição de poliaminas exógenas pode mantê-la (POLJAKOFF-MAYBER & LERNER, 1994).

Em resposta ao estresse térmico, pode haver ou não a síntese de um determinado grupo de proteínas de baixo peso molecular (Ubiquitina, HSPs de 110 kDa, 90 kDa, 70 kDa, 60 kDa, etc... - chamadas proteínas de choque térmico). Essas proteínas, em geral, são produzidas no núcleo, sendo sua síntese promovida por mensageiros intracelulares, como o sistema Ca-CaM, conferindo a termotolerância. Essa adaptação se dá pela preservação das membranas do meio oxi-redutivo, do nível de íons, e impedindo a desnaturação de outras proteínas, mantendo sua atividade. A síntese dessas proteínas de choque térmico é um mecanismo de adaptação às altas temperaturas e é variável entre espécies, e dentro da espécie, entre variedades (BRODL, 1990). Essas proteínas de choque térmico estão associadas especificamente com determinadas organelas, como o núcleo, ribossomas, cloroplastos, mitocôndrias e plasmalema. Os homólogos HSP70 do cloroplasto parecem se associar à ATPase estimulando a produção de ATP, enquanto outros homólogos no citoplasma facilitam o transporte de proteínas através do retículo endoplasmático. O homólogo HSP60 associado ao cloroplasto está envolvido na montagem das subunidades da rubisco para ativá-la. Porém, ainda conhecemos pouco sobre os mecanismos de síntese e ação da maioria dessas enzimas de choque térmico. Com o conhecimento do controle genético dessas enzimas, estes genes poderão ser transferidos para outras plantas mais sensíveis (VIERLING, 1991). O número dessas proteínas de choque térmico é variável segundo a espécie. *Gossypium hirsutum* L. sintetiza pelo menos 8 tipos de proteínas de choque térmico, enquanto *Vigna unguiculata* L. sintetiza apenas 2 tipos, ambos desenvolvendo-se em temperaturas em torno de 40°C (DUBEY, 1994). Em milho, uma variedade termotolerante difere de outra variedade termosensível pela síntese de apenas uma proteína de choque térmico de 45 kDa (RISTIC et al., 1991).

A adaptação às altas temperaturas se faz também pela maior estabilidade estrutural das membranas celulares e principalmente cloroplásticas, onde ocorrem os fotossistemas. Essa maior estabilidade membranar é conferida, além de sua estabilização por proteínas de choque térmico, também pela composição de glicerolípideos na membrana, dada pelo grau de insaturação de seu ácidos graxos, segundo GOMBOS et al. (1994) ou ao contrário, pela saturação destes ácidos graxos, segundo BRODL (1990).

Existem também mecanismos de evitamento do estresse causado por altas temperaturas, como a pubescência e ou produção de ceras em folhas, aumentando a reflexão da energia luminosa, ou ainda folhas com células com grandes vacúolos e alto conteúdo hídrico relativo, como as plantas CAM obrigatórias. Devido ao grande volume de água, o aumento da temperatura da folha é menor (BJÖRKMAN et al., 1980), pois a água absorve grande quantidade de energia para o aumento de sua temperatura, causando menor variação de temperatura no sistema (KRAMER & BOYER, 1995).

3.B.2. Efeitos da temperatura no desenvolvimento vegetal

Em uma cultura anual de grão, os eventos de seu desenvolvimento são a germinação, a emergência, o crescimento vegetativo, a iniciação floral, a floração, a formação e maturação do grão. Pode-se utilizar um índice de desenvolvimento (ID), para cada um destes estádios onde a germinação tem valor 0 e a maturidade do grão, um valor 1. Por exemplo, a máxima área foliar é obtida em geral com um ID de 0,5 a 0,6 e o máximo peso seco da planta é atingido com ID de 0,8 a 0,9. Para cada um dos estádios de desenvolvimento, a temperatura ótima é diferente. No arroz, as temperaturas ótimas são de 18 a 40°C para a germinação, de 20 a 30°C para a emergência, de 30°C para a alongação de folhas, entre 20 e 30°C para a iniciação floral, de 30 a 33°C para a antese e entre 20 e 29°C para a maturação. A velocidade de desenvolvimento aumenta mais ou menos linearmente, desde uma temperatura mínima chamada de temperatura basal, na qual não há acumulação de matéria seca, até à temperatura ótima, acima da qual o crescimento é reduzido. A temperatura basal de leguminosas é usualmente de 8 a 10°C, a de gramíneas de 8 a 13°C, e a temperatura ótima varia de 25 a 35°C e 33 a 40°C, respectivamente (NORMAN et al., 1995).

Em milho, quando o desenvolvimento se dá a uma temperatura média de 27°C, uma nova folha se expande a cada 2,4 dias, enquanto a 15°C, leva 5,9 dias. Um genótipo precoce de clima temperado, o *Gaspé Flint* por exemplo, semeado nos trópicos terá um total de 7 folhas somente (o n° mínimo de folhas é 5, pois é o n° já existente na forma embriogênica), tendo essa variedade 22 folhas em sua região de cultivo (a inflorescência masculina inicia-se com 8 folhas expandidas). Aumentando a temperatura média, reduz-se o ciclo da planta. O n° final de folhas da planta é determinado pela iniciação floral e, a duração do período de iniciação floral até à floração, é função do desenvolvimento do primórdio, controlado principalmente pela temperatura.

O tempo para chegar-se ao estágio de iniciação floral é controlado pelas temperaturas médias do ambiente e é característico para a espécie, e dentro da espécie, para as cultivares, sendo determinante para a caracterização da duração do ciclo da cultura (WALDREN, 1983). Em feijão, o ciclo da variedade **Porrillo Sintético** pode passar de 120 dias, em temperaturas médias de 15°C, para 75 dias, em temperaturas médias de 25°C (WHITE, 1985).

Este fato levou a desenvolver-se índices chamados de unidades térmicas (UTs) ou graus.dias^{-1} , baseados ou na temperatura média diária, ou nas temperaturas máxima e mínima. A unidade térmica para a cultura é obtida pelo somatório das diferenças entre a temperatura média diária e a temperatura basal para a cultura. Essa temperatura basal é de 9°C para o milho (porém certas variedades adaptadas às baixas temperaturas podem ter uma temperatura basal de 6°C), 10°C para o milho e feijão, e para o algodão e cana-de-açúcar é de 15°C.

$$UTs = \sum(\text{temp. média diária} - \text{temp. basal, em } ^\circ\text{C}), \text{ por dia.}$$

Por exemplo, para o milho nos trópicos, limitando as temperaturas entre 10 e 34°C, o desenvolvimento de uma folha necessita de 40 UTs, então para uma planta florescer com 22 folhas, ela necessita de 928 UTs. O milho, que tem um ID de 0,3 para a iniciação floral, e de 0,6 a 0,7 para a antese, precisa de 200 UTs para iniciar o perfilhamento, 460 da iniciação floral até à antese, e 290 para o enchimento do grão (NORMAN et al., 1995).

Por isso, a avaliação do desenvolvimento de uma cultura em um determinado ambiente deve ser feita levando-se em conta as temperaturas médias locais para previsão da duração do ciclo da planta, e para podermos comparar resultados em ambientes distintos, através no número de UTs para cada estágio. A produtividade de uma cultura em locais diferentes, recebendo o mesmo manejo, será bastante distinta em função da duração do ciclo, que é controlado pelas temperaturas-ambiente. O acompanhamento das UTs permite também a previsão da data de colheita, com uma certa antecedência, facilitando o seu planejamento.

3.C. Eficiência no uso de nutrientes e o metabolismo de carbono

Devido ao aumento da população mundial, a agricultura tem se expandido para regiões marginais com baixa disponibilidade de nutrientes. Com o melhoramento da eficiência na utilização de nutrientes já houve ganhos na capacidade de retranslocação de nitrogênio (N) e de fósforo (P) dos órgãos vegetativos para os reprodutivos, que deve estar associada à manutenção do

índice de colheita e de um maior número de grãos por unidade de N ou de P absorvidos. Em geral, o material selecionado para alto rendimento sob baixa disponibilidade de N, não são responsivos às altas doses. Como já foi dito, hoje em dia buscamos plantas que sejam eficientes no uso de nutrientes, pois estes elementos são esgotáveis e representam alta parcela no custo de produção agrícola. Portanto, o estudo sobre a eficiência de absorção, de assimilação e de utilização dos nutrientes, permitirá avanços na produtividade agrícola, principalmente na agricultura tropical, onde os nutrientes estão pouco disponíveis. Devemos estudar as plantas nativas de ambientes naturais de baixa disponibilidade de nutrientes para conhecermos os mecanismos de eficiência no seu uso e selecionarmos, entre as cultivadas, aquelas que atinjam maiores produções com baixas doses de fertilizantes (POWER, 1990), o que é diferente de uma seleção para plantas “responsivas”, durante a revolução verde.

Dentre os elementos requeridos pela célula, depois do C, O e H, obtidos pela fotossíntese e absorção de água, o N é aquele requerido em maior quantidade, representando de 1,35 a 6,0% do peso seco do vegetal (MARSCHNER, 1995). O N está pouco disponível no solo, principalmente nos tropicais, pois é lixiviado, volatilizado e utilizado por microrganismos, em maior velocidade do que em clima temperado. A atividade biológica é maior nos trópicos do que em clima temperado devido às altas temperaturas e precipitação. Além disto, há interrupção de tais processos durante o inverno em clima temperado.

Na planta existe uma estreita correlação entre o metabolismo de N e de C (Fig. 6), ocorrendo um declínio da atividade fotossintética com a diminuição da disponibilidade de N (OSMOND et al., 1982). Este declínio é mais acentuado em plantas C_3 do que em plantas C_4 , que são mais eficientes no uso fotossintético de N. A assimilação de C pela fotossíntese é dependente da atividade da rubisco, que equivale a mais de 50% do N foliar em plantas C_3 . Além da formação da rubisco, o N é imprescindível para a formação das membranas dos tilacóides e pigmentos do cloroplasto. Com o aumento da disponibilidade de N, há um aumento proporcional da atividade da rubisco e da assimilação de C até atingir a saturação. Durante a ontogenia da folha, há um aumento gradual no conteúdo de N e da atividade fotossintética, até que o conteúdo máximo de N seja atingido. Em seguida, há um declínio do conteúdo de N, devido sua exportação para folhas e órgãos mais jovens, com conseqüente declínio da fotossíntese. Segundo LEEGOOD (1996), a enzima rubisco, responsável pela assimilação de C, funciona como um “pool” de

reserva de N. Portanto, a assimilação de CO_2 é diretamente proporcional ao conteúdo de N foliar, pois com o aumento, e depois a diminuição dos teores de N durante a ontogenia da folha, ocorre a mesma variação na atividade da enzima rubisco, principal composto nitrogenado na folha, responsável pela assimilação do CO_2 (DALLING, 1985).

Por outro lado, a assimilação de N depende dos ácidos orgânicos e do ATP e NADH, produzidos no catabolismo de carboidratos para formar os aminoácidos (Fig. 6). O metabolismo de C depende do metabolismo de N para a síntese da enzima de carboxilação, e o metabolismo de N depende do fornecimento de ácidos orgânicos, ATP e NADH, oriundos do metabolismo de C, para a assimilação do N (RITCHER, 1993).

A eficiência de utilização de N, que é a produtividade alcançada por unidade de fertilizante aplicado, é determinada por algumas variáveis: absorção de nitrato ou amônia, atividade da redutase do nitrato, tamanho do pool de estoque de nitrato, habilidade de mobilizar e translocar N para os órgãos colhíveis, e adaptação à baixa disponibilidade de N no meio (DUNCAN & BALIGAR, 1990).

Além da baixa disponibilidade de N em zona tropical, o P é fator limitante em grande parte dos solos tropicais e a adubação fosfatada traz grandes respostas na produtividade. Os fatores ambientais como a disponibilidade de água, alteram a absorção de P das plantas. As cultivares de arroz no Brasil são separadas em 4 grupos em função da resposta da produção ao fósforo e da eficiência no uso de P (FAGERIA, 1984). Como para o N, existe também uma variabilidade na eficiência de uso de P entre espécies e esta está correlacionada com a superfície radicular, em variedades de tomateiro (SILVA & MAGALHÃES, 1989). Contudo, devemos salientar que não somente as características morfológicas da planta, como o sistema radicular, influenciam a eficiência no uso de P. Características fisiológicas de absorção, assimilação e distribuição de P na planta, assim como associações com micorrizas ou capacidade da planta em modificar a rizosfera, afetam o uso de P da planta (Tab. 6).

Do ponto de vista prático, existem ao menos quatro diferenças entre cultivares, quanto à nutrição mineral: a produtividade, a absorção de nutrientes, o requerimento distinto para um elemento específico e a tolerância à toxidez. O local de absorção na raiz é de grande importância e alguns elementos são absorvidos principalmente pela zona de crescimento, próxima da coifa, como o cálcio, magnésio, manganês e ferro, enquanto outros também são absorvidos pelas regiões mais suberizadas, como o potássio, a

amônia, e fosfatos. A importância da densidade radicular é variável também segundo o elemento. Por exemplo, para a absorção de N, uma densidade de 0,1cm de raiz por cm³ de solo é necessária, enquanto para o P, uma densidade de 1 a 10 cm de raiz por cm³ de solo é requerida. Porém, um sistema radicular menor pode ter sucesso na absorção de P se a capacidade do vegetal em metabolizar este nutriente for alta. Isto foi visto em algumas cultivares de feijão em que houve uma correlação negativa entre a assimilação de P e a densidade do sistema radicular, provavelmente devido à maior eficiência de assimilação deste nutriente, mesmo com um pequeno sistema radicular. Diferenças no uso de P também foram detectadas em milho, tomate e soja. A eficiência no uso de P em termos de produção varia de 380 a 671 mg de peso seco produzido por mg⁻¹ de P disponível (VOSE, 1990). De uma forma geral, os vegetais com alto suprimento de N diminuem o crescimento radicular, favorecendo o crescimento da parte aérea. Este aumento da área foliar poderá aumentar a transpiração e, em condições de falta de água, reduzir a produção (KRAMER & BOYER, 1995).

A disponibilidade de nutrientes afeta o conteúdo de fitormônios e crescimento dos tecidos. O nitrogênio tem o efeito mais proeminente sobre o crescimento de raízes e produção e exportação de citocininas para a parte aérea. Em batata, o teor de citocinina no xilema aumenta com a idade da planta, mas se o suprimento de N é interrompido, as raízes respondem com um decréscimo drástico de citocinina exportada. Quando o suprimento é restaurado, a exportação de citocinina é estimulada. A síntese e exportação de citocininas também são afetadas pelo fósforo e potássio, mas não de maneira tão expressiva quanto com o N. A relação entre número de primórdios radiculares e área foliar, em tomate, é provavelmente ditada pela produção de citocininas, dependente da disponibilidade de nutrientes. Em *Plantago major*, diminuindo a disponibilidade de nutrientes, diminui o conteúdo de citocininas e o crescimento. Em plantas com suprimento adequado de nutrientes, dois dias depois da transferência para condições de baixo suprimento de nutrientes, o conteúdo em citocininas e o crescimento da parte aérea são drasticamente reduzidos. Outro fitormônio afetado pela disponibilidade de N é o ABA, que a exemplo do que ocorre com a falta de água no solo, com baixo N há um aumento da produção de ABA na raiz e na parte aérea, sendo acumulado nas folhas, causando paralização da elongação celular. O teor de giberelinas, na parte aérea de batata, diminui com a falta de N e é restaurado quando a planta é transferida para condições de alto suprimento de N. Plantas sob baixa disponibilidade de N respondem mais

rapidamente à falta de água no solo, com rápido fechamento estomático, devido ao alto suprimento de ABA e baixo de citocinina já existente sob deficiência de N. Em algodão, a deficiência em P causa aumento do teor de ABA nas folhas, e a resposta ao estresse hídrico é mais rápida (MARSCHNER, 1995).

Para o crescimento vegetativo, a baixa disponibilidade de N e de P causam redução no índice de área foliar pelo declínio da atividade fotossintética, e do número e alongação das células epidérmicas. Em gramíneas, a zona de alongação se situa na base da folha, protegida pelas folhas superiores e por isto, o crescimento da folha, sob deficiência de N, tende a ser menos afetado do que a fotossíntese. As plantas deficientes em P têm a coloração verde escuro devido à paralização da alongação celular, ficando com um maior número de células por unidade de área. Além disso a baixa disponibilidade em P afeta a exportação de trioses-P do cloroplasto, que depende da entrada de P inorgânico nessa organela (VOSE, 1990).

Em maçã e em citrus, uma aplicação de N-amoniaco na pré-floração tem um efeito maior no desenvolvimento que o suprimento contínuo de N-nítrico, aumentando a iniciação floral, provavelmente pela síntese de compostos nitrogenados, como as poliaminas que ativam a iniciação floral. O déficit hídrico tem o mesmo efeito como indutor de floração em algumas culturas como citrus devido à acumulação de amônio nas folhas de plantas estressadas. A aplicação foliar de uréia também aumenta a floração e frutificação em citrus e maçã, e repetida por 3 anos não causou diminuição de frutificação (RABE, 1994). Em arroz, a aplicação foliar de N na floração causou aumento no teor de proteínas no grão (SOUZA et al. 1993).

O suprimento adequado de P e K afeta também a formação de flores em maçã e tomate, aumentando os teores de citocininas. A deficiência de N e de P durante a fase crítica de formação de flores causa aborto dessas. O suprimento adequado de N neste período crítico aumenta os teores de citocininas e abaixa os de ABA, diminuindo o aborto floral. Em batata, um contínuo e alto fornecimento de N atrasa ou impede a tuberação devido à diminuição da síntese de giberelinas na parte aérea. Um baixo suprimento de N, contudo, pode diminuir o IAF e a duração da área foliar devido à senescência de folhas, diminuindo assim a produção. Em frutas ou tubérculos, o conteúdo de K nestes órgãos é grande e a deficiência deste elemento nas fontes pode limitar a produção e exportação de fotoassimilados. Em contraste, os cereais têm mais de 80% do N e P no grão, contra somente 20% do K. Portanto, em cereais a deficiência de N e P limita a produção de fotoassimilados da fonte, enquanto a deficiência de K não é tão importante.

Ainda em cereais, a folha bandeira fornece de 59 a 89% do P encontrado no grão de trigo. Em tais plantas a deficiência de P vai acelerar a senescência da folha bandeira, anulando a fotossíntese, podendo levar a uma redução de 40% do potencial produtivo (MARSCHNER, 1995).

Apesar da importância de todos os macro e microelementos afetando a fotossíntese, e o crescimento e desenvolvimento vegetal, a discussão se concentrará no metabolismo de N, que depois do C, O e H é o elemento requerido em maiores quantidades pelas plantas, com efeito direto sobre a fotossíntese e o metabolismo de carbono. Porém, deve-se ressaltar que em solos tropicais antigos, além do N, observa-se também deficiência em P, e a adubação fosfatada, apesar de ser feita em menores quantidades do que a nitrogenada, tem grande efeito na produtividade vegetal (VOSE, 1990).

3.C.1. Interação entre o metabolismo de N e de C

Na década de 50, grandes aumentos de produtividade foram obtidos com a melhoria do manejo, utilização de cultivares melhoradas e aumento da aplicação de fertilizantes, especialmente de N. Pouca pesquisa foi feita para aumento da eficiência no uso de nutrientes, pois os fertilizantes nitrogenados e o petróleo eram bastante disponíveis e baratos. Naquela época, o conceito de modificar o solo para as necessidades do vegetal prevalecia. Com a crise do petróleo na década de 70, causando uma instabilidade na economia mundial, aumentou o interesse em aproveitar a variabilidade genética de plantas, visando melhorar a eficiência no uso dos nutrientes. Atualmente, mais de 65 milhões de toneladas de fertilizantes nitrogenados são aplicadas por ano (MARSCHNER, 1995), devendo quadruplicar depois do ano 2000, o que mostra que o potencial de produtividade das culturas estará intimamente ligado à disponibilidade de N (CLARK, 1991).

O nitrogênio (N) é um elemento de grande requerimento pelas plantas e em baixa disponibilidade nos solos, principalmente nos tropicais. Apesar do N molecular (N_2) compor mais de 78% da atmosfera, este não reage quimicamente em condições normais e só é utilizado por microrganismos fixadores de N_2 . Dentre estes microrganismos, aqueles que fazem associação com os vegetais fornecem N-orgânico a estes, ou participam na absorção de P pelas plantas, no caso das micorrizas (NEVES & HUNGRIA, 1987; SIQUEIRA & FRANCO, 1988; ARAÚJO & HUNGRIA, 1994). Sistemas complexos de absorção, assimilação e mobilização evitam o desperdício de energia e resultaram de uma adaptação progressiva das plantas aos ambientes de baixo suprimento de N (FERNANDES & ROSSIELLO, 1995).

O conhecimento sobre o comportamento vegetal quanto ao uso de nutrientes nos permite manusear ou modificar o sistema para melhorar a eficiência no uso de N. Por exemplo: alguns genótipos têm melhor capacidade de absorção de N-NO_3^- e outros, de N-NH_4^+ ; alguns genótipos produzem mais matéria seca por unidade de N aplicada; outros genótipos têm maior capacidade de mobilização de N de folhas e outros órgãos, para o grão; e alguns genótipos são mais adaptados a alto suprimento de N, enquanto outros são adaptados a baixo suprimento (VOSE, 1991).

Nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) são as maiores fontes de nitrogênio inorgânico absorvidas pelas plantas (Fig. 16). A maior parte do NH_4^+ na planta deve ser incorporado em N-orgânico já na raiz, pois não pode ficar livre na célula e tecidos, uma vez que a amônia (NH_3), resultante da reação do NH_4^+ com a OH^- , da água, é tóxica mesmo em baixas concentrações, causando desacoplamento dos processos de fosforilação, sendo bastante permeável nas membranas mitocondrial e cloroplástica. Já o NO_3^- pode circular na planta e ser acumulado no vacúolo, sem causar danos à planta, podendo então ser estocado para posterior utilização (RICHTER, 1993). FERNANDES & ROSSIELLO (1995) ressaltam que em solos tropicais, com alternadas estações secas e chuvosas, há aumento súbito (“flush”) na disponibilidade de NO_3^- no início da estação chuvosa durante 3 a 5 semanas. Isto é devido à rápida degradação de matéria orgânica, com o aumento da população de microrganismos nos solos, principalmente fungos, e também devido à migração do NO_3^- para a superfície do solo, durante a estação seca, de alta evaporação (NORMAN et al., 1995). Uma estratégia de adaptação em plantas seria a rápida absorção e acúmulo do NO_3^- para posterior utilização durante o seu desenvolvimento, quando a sua disponibilidade diminui com a lixiviação pelas chuvas e uso pela crescente micro fauna e flora do solo.

3.C.1.1. NO_3^- como fonte de N

A absorção de NO_3^- é ativa contra o potencial eletroquímico em um simport, associado à entrada de H^+ . Neste processo, a força motiva é o gradiente de prótons criado pela célula, com aumento do pH externo para promover a entrada do NO_3^- . O NO_3^- absorvido pode ser acumulado no vacúolo para posterior utilização, mas para sua assimilação e utilização, precisa ser reduzido a NH_3 , e então incorporado em compostos orgânicos. Este processo necessita de 2 elétrons, para sua redução a NO_2^- , na reação catalizada pela nitrato redutase, e 6 elétrons, para a redução do NO_2^- a NH_3 , na reação

catalizada pela nitrito redutase (Fig. 16). Em plantas superiores, essa redução do NO_3^- ocorre principalmente nas células verdes, onde a nitrato redutase se localiza no citoplasma e a nitrito redutase no cloroplasto. Tal redução ocorre também em raízes e outros tecidos não fotossintetizantes, como em tremoço, onde a ferredoxina funciona como doadora de elétrons. Essa redução de NO_3^- a NH_3 , ocorre, preferencialmente, em tecidos fotossintetizantes devido à grande demanda de elétrons, que são então fornecidos pelos fotossistemas, na presença de luz. Assim a assimilação de N- NO_3^- depende da fotossíntese para fornecimento de elétrons, pelo fotossistema I, para a redução do NO_3^- , competindo com o CO_2 pelo poder redutor (CLARK, 1991).

A nitrato redutase em plantas superiores é uma enzima complexa e extremamente sensível às variações ambientais, ao substrato e ao produto final. Ela é constituída de duas subunidades idênticas, onde cada subunidade pode funcionar independentemente, contendo 3 grupamentos prostéticos com os fatores: flavina adenina dinucleotídeo (FAD), citocromo 557 e molibdênio (MoCo). Já a nitrito redutase é monomérica com um único grupamento prostético siroheme (Fig. 16) (MARSCHNER, 1995).

Este sistema nitrato redutase/nitrito redutase funciona em coordenação, sendo um sistema enzimático bastante complexo e sensível, protegendo o metabolismo de N de variações ambientais. A atividade dessas enzimas é aumentada rapidamente pela presença do substrato inicial, o NO_3^- , pelo aumento da luz e temperatura, sendo diminuída pelo acúmulo do produto final, o NH_3 , pelo estresse hídrico ou térmico e pela obscuridade (KRAMER & BOYER, 1995). O aumento da atividade do sistema é devido à síntese *de novo* das enzimas e a diminuição pela sua degradação, sendo que sua atividade é máxima quando a expansão foliar também o é, assim como para a atividade fotossintética, decrescendo após, com a diminuição da atividade fotossintética (GUPTA & BEEVERS, 1985).

Portanto, este sistema enzimático de assimilação de NO_3^- é modulado pelas condições ambientais, sendo que ao contrário do NH_3 , o NO_3^- pode ser acumulado em folhas, bainhas e colmos, para ser utilizado quando as condições forem adequadas e houver demanda de N para o crescimento. A atividade dessas enzimas é uma característica herdável e a seleção de plantas para aumento da atividade de redução do NO_3^- , assim como a manutenção de alta atividade no período de floração e frutificação, está associada com o aumento do rendimento vegetal (CLARK, 1991).

Após a redução do NO_3^- a NH_3 , a assimilação do NH_3 se dá sob a ação de outras enzimas, como será visto a seguir.

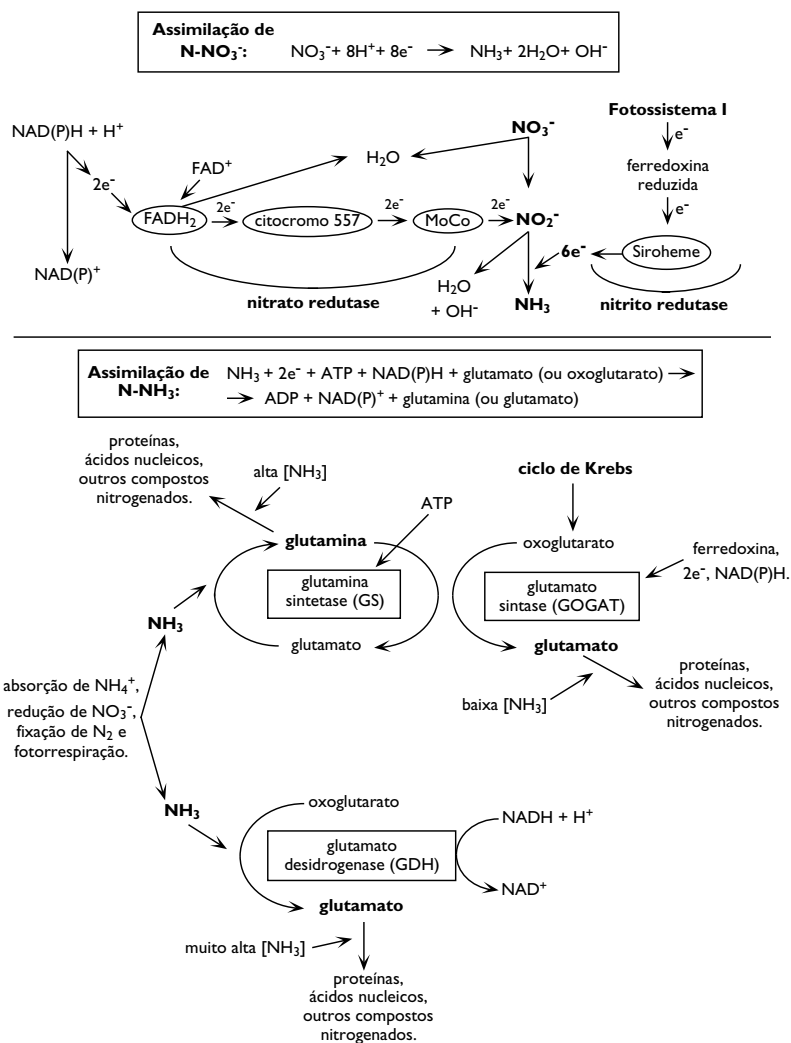


FIGURA 16. Assimilação de nitrogênio, na forma nítrica (NO₃⁻) e/ou na forma amoniacal (NH₄⁺). A nitrato redutase é composta por 2 subunidades idênticas, com 3 grupamentos prostéticos: FAD, citocromo 557 e molibdênio associado ao cobalto (MoCo). Já a nitrito redutase é monomérica, com 1 grupamento prostético: siroheme. Adaptado de Marschner (1995).

3.C.1.2. NH_4^+ como fonte de N

Enquanto o NO_3^- pode ser acumulado nos vacúolos para posterior assimilação, o NH_4^+ absorvido ou NH_3 oriunda da redução do NO_3^- devem ser assimilados prontamente, pois a NH_3 é tóxica mesmo em baixas concentrações. Amônio e amônia se interconvertem e é difícil quantificar uma forma ou outra. A assimilação do NH_3 absorvido, ocorre na raiz devido à toxicidade deste composto, e requer uma grande quantidade de esqueletos de carbono, principalmente o oxoglutarato, oriundo do ciclo de Krebs, na respiração (Fig. 16) (FERNANDES & ROSSIELLO, 1995).

As duas enzimas chaves neste processo são a glutamina sintetase (GS) e a glutamato sintase (GOGAT), encontradas em raízes, cloroplastos e em microrganismos fixadores de N_2 , assimilando toda a NH_3 oriunda da absorção de NH_4^+ , da fixação do N_2 , da redução do NO_3^- e da fotorrespiração. Neste sistema GS/GOGAT, o glutamato é o aceptor inicial para a NH_3 e a amida glutamina é formada com consumo de ATP pela ação da glutamina sintetase, que tem baixo K_m para o substrato. Em seguida, a segunda enzima, a glutamato sintase, cataliza a transferência do grupamento amino ($-\text{NH}_2$) para um segundo oxoglutarato, proveniente do ciclo de Krebs, consumindo poder redutor (ferredoxina reduzida ou NAD(P)H) e formando duas moléculas de glutamato. Uma dessas moléculas de glutamato é requerida para manutenção da assimilação de NH_3 , enquanto a outra molécula poderá ser exportada. Quando o suprimento de NH_3 é alto, as duas moléculas de glutamato servem como aceptores da NH_3 e uma molécula de glutamina deixa o sistema (MARSCHNER, 1995). Uma terceira enzima, a glutamato desidrogenase (GDH), que tem uma baixa afinidade pelo substrato, só tem importância na assimilação de NH_3 em altíssimas concentrações na raiz (MAGALHÃES & HUBER, 1989).

Após a assimilação do N em compostos orgânicos, o grupamento amino do glutamato ou da glutamina pode ser transferido para outras amidas, como a asparagina, para ureídos, como a ornitina, e para a formação de outros aminoácidos, utilizando os compostos intermediários da fotossíntese, glicólise ou ciclo de Krebs. O 3-fosfoglicerato do ciclo de Benson-Calvin dá origem à serina, que por sua vez forma a glicina e a cisteína; o piruvato da glicólise forma triptofano, fenilalanina, tirosina, alanina, valina e leucina; o oxaloacetato, do ciclo de Krebs, forma o aspartato que pode formar a asparagina, a metionina, a isoleucina e a lisina; e finalmente, o oxoglutarato, também do ciclo de Krebs, forma a glutamina, a ornitina, e desta se formam

a arginina e a prolina, que por sua vez forma a hidroxiprolina. A partir destes aminoácidos essenciais todas as proteínas necessárias ao metabolismo vegetal são sintetizadas (STRYER, 1995).

Portanto, para a assimilação de NH_3 , o metabolismo de N requer ATP, NAD(P)H e ácidos orgânicos oriundos do metabolismo de C e, conseqüentemente, qualquer fator ambiental que afete o metabolismo de C, interferirá na assimilação de N.

3.C.1.3. Fixação biológica de N_2 , em leguminosas

Estima-se que a fixação biológica do nitrogênio (FBN) fornece entre 139 e 170 milhões de toneladas de N por ano para a biosfera, o que é muito superior aos 65 milhões aplicados como fertilizantes. Visto o custo atual da energia fóssil e a demanda de fertilizantes nitrogenados para a produção de alimentos, é grande o interesse na FBN e no melhoramento de sua eficiência. A eficiência se baseia em 3 fatores: 1) o suprimento de fotoassimilados para os bacteróides no nódulo; 2) a manutenção de baixas concentrações de O_2 no interior do nódulo, para proteção da nitrogenase; e 3) a rápida exportação do nitrogênio fixado (RICHTER, 1993). Neste sistema (Fig. 17), a sacarose é fornecida ao nódulo através do floema, e no nódulo os metabolismos de C e de N estão adaptados ao ambiente com baixo O_2 . A baixa concentração de O_2 no nódulo é mantida por: 1) geração de uma barreira à difusão do O_2 no córtex do nódulo, pela membrana peribacteróide, por camadas de células com poucos espaços intercelulares, e camadas de água, impedindo a sua difusão; 2) direcionamento da glicólise para a formação de malato, com a subsequente formação redutiva do succinato quando o teor de O_2 é alto; utilização de ácidos C_4 pelo bacteróide, ao invés de consumir mono ou dissacarídeos; 3) formação de ATP no bacteróide, que é associada a uma oxidase com alta afinidade pelo O_2 ; 4) síntese da leghemoglobina que se liga ao O_2 e controla a sua disponibilidade para o bacteróide (VANCE & HEICHEL, 1991). Portanto, a quantidade de O_2 disponível para a respiração do bacteróide é regulada pela leghemoglobina, e a sua atividade está associada, mas não linearmente, à capacidade de FBN do nódulo. O custo em C para a FBN é estimado em 6 a 12g de C. g^{-1}N fixado, se os custos do crescimento e manutenção dos nódulos forem incluídos (cerca de 30% dos fotoassimilados da planta são gastos nos nódulos, segundo NEVES & HUNGRIA, [1987]), o que é alto comparado, por exemplo, ao custo da

redução de NO_3^- em folhas. Por isto, leguminosas em um ambiente com alta disponibilidade de N-mineral tem sua nodulação diminuída pois irão assimilar preferencialmente o N-mineral.

O processo de infecção do *Rhizobium* é específico para aquele hospedeiro, ocorrendo pela ação de fatores de nodulação secretados pela bactéria, na maioria ácidos graxos, reconhecidos na membrana celular da planta, que produz outras substâncias (flavonóides e lectina) capazes de induzir a expressão de genes de nodulação (*nod*) na bactéria e que por sua vez produzirão compostos promotores de modificações na estrutura dos pelos radiculares e células corticais, permitindo a infecção (GEURTS & FRANSEN, 1996).

A redução biológica do N_2 é um processo altamente endergônico. A enzima chave neste processo é a nitrogenase (Fig. 17) que é constituída de 2 Fe-proteínas sensíveis ao O_2 (por isto a FBN é proporcional aos níveis de leghemoglobina, que controla a entrada de O_2 no bacteróide). A menor Fe-proteína tem 2 subunidades, e a maior, uma MoFe-proteína, tem 4 subunidades. A nitrogenase catalisa a redução de diversos substratos, incluindo o H^+ , N_2 e C_2H_2 . A reação de redução de um mole de N_2 , consome 8 H^+ , 8 elétrons e pelo menos 16 Mg, produzindo 2 moles de NH_3 , 1 de H_2 , 16 de ADP e 16 de Pi (STRYER, 1995). O H_2 produzido representa um inibidor competitivo da fixação de N_2 e uma perda de energia, mas pode ser reprocessado em parte pela hidrogenase, uma enzima que quebra a molécula de H_2 , produzindo 2H^+ e 2 elétrons que são reciclados na FBN. A seleção de leguminosas com alta atividade da hidrogenase pode ser considerada benéfica para aumento da eficiência da FBN (PATE, 1996).

O nitrogênio fixado no bacteróide é exportado como NH_3 para o citosol do nódulo, considerado um tecido do hospedeiro. No citosol, o NH_3 é assimilado pelo sistema GS/GOGAT, produzindo glutamina, que é transaminada a ureídios em caupi, soja e feijão (alantofina e ácido alantóico, com a vantagem de ter uma relação C/N de 1) ou asparagina, em tremoço (com relação C/N de 2 a 2,5), para exportação via xilema. Altas concentrações de NH_3 ou dos produtos de sua assimilação reprimem a atividade da nitrogenase, o que explica a diminuição da FBN, com a aplicação de fertilizantes (MARSCHNER, 1995).

Visto a dependência do suprimento de fotoassimilados para a FBN, a taxa de fixação é proporcional à taxa fotossintética do vegetal, sendo que o pico de FBN durante o ciclo da planta ocorre no início da floração, quando há a maior taxa fotossintética da planta. Nas fases subseqüentes, há uma diminuição da

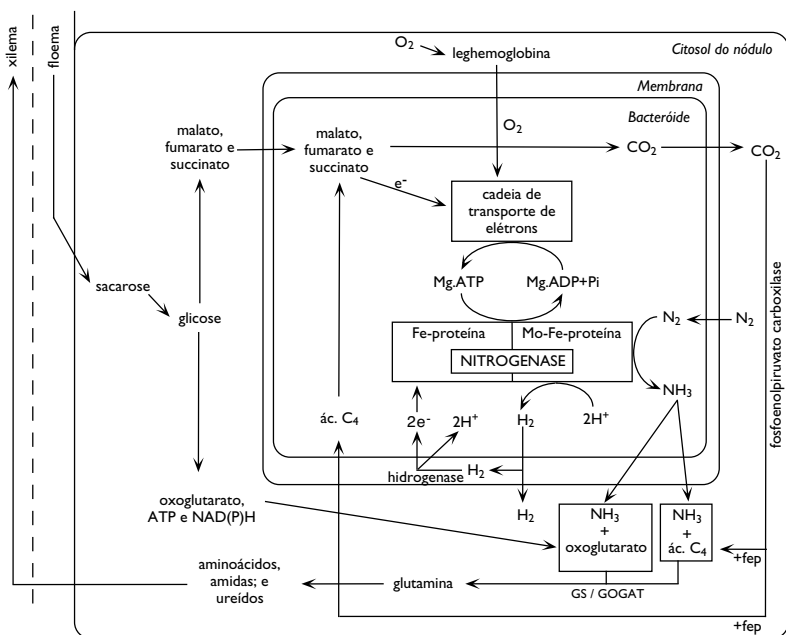


FIGURA 17. Fixação biológica de N₂ (FBN), em leguminosas. A nitrogenase é constituída de 2 Fe-proteínas: a menor Fe-proteína tem 2 subunidades e a maior, uma MoFe-proteína, tem 4 subunidades. O H₂ produzido no processo é inibidor da FBN e é reprocessado pela ação da hidrogenase, que quebra a molécula, produzindo 2 H⁺. Adaptado de Marschner (1995).

fotossíntese, e a competição por carboidratos para os órgãos reprodutivos aumenta, diminuindo a FBN. Essa diminuição é mais ou menos acentuada segundo a leguminosa e, portanto, a aplicação tardia de fertilizantes nitrogenados pode ser benéfica ou não, dependendo do genótipo (PATE, 1996).

A FBN é dependente do efeito de fatores ambientais sobre a planta. Por exemplo, a falta de água pode causar inicialmente um aumento na FBN devido a maior disponibilidade de gases no solo. Porém, com a desidratação mais severa da planta, há uma redução drástica da fotossíntese e conseqüentemente da FBN. Além da baixa disponibilidade de fotoassimilados, com a falta de água no solo há um aumento de sua temperatura, que também vai afetar a FBN (PIMENTEL et al, 1990). Qualquer efeito sobre a produção de fotoassimilados da planta vai reduzir a FBN devido a menor disponibilidade de esqueletos de C e ATP (KRAMER & BOYER, 1995).

Avanços na FBN devem ser conseguidos com o melhoramento para a simbiose, tanto das bactérias como dos hospedeiros. O aumento da eficiência de FBN pode ser alcançado com a manipulação genética, tornando assim as bactérias endofíticas, como as da cana-de-açúcar, mais eficientes, ou ainda pela manipulação de bactérias para fixação biológica de N_2 , em associação com culturas como milho, trigo ou arroz. Atualmente, a única cultura para a produção de alimentos que não necessita de fertilizantes nitrogenados quando inoculada, é a soja. Portanto, os estudos sobre o metabolismo de C na planta hospedeira, associado com a atividade metabólica para a assimilação de N na bactéria em simbiose, poderão trazer maior economia no uso de fertilizantes nitrogenados (SIQUEIRA & FRANCO, 1988; ARAÚJO & HUNGRIA, 1994). Para as leguminosas que necessitam de uma complementação de N mineral, o aumento da capacidade fotossintética da planta, pelo enriquecimento de CO_2 atmosférico por exemplo, causa aumento da atividade da nitrogenase (VANCE & HEICHEL, 1991). Por isso, a seleção de cultivares mais eficientes na produção e transporte de fotoassimilados poderá implementar a FBN nessas plantas.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. & WATSON, J. D. 1994. *Molecular biology of the cell*. Garland publ. New York.
- ALVIM, P. de T. & ARAÚJO, W. A. 1952. Soil as an ecological factor in the development of vegetation in the central plateau of Brazil. *Turrialba*, 2: 153-160.
- ALVIM, P. de T. 1958. Recent advances in our knowledge of coffee trees. I. Physiology. *Coffee tea industries and the flavor field*, 81: 17-18, 20, 22,24-25.
- ALVIM, P. de T. 1962. *Los fatores de la productividad agrícola*. IICA, Lima.
- APEL, P. 1994. Evolution of the C₄ photosynthetic pathway: a physiologists' point of view. *Photosynthetica*, 30: 495-502.
- ARAÚJO, R. S. & HUNGRIA, M. 1994. *Microrganismos de importância agrícola*. EMBRAPA/SPI. Brasília.
- ARNON, I. 1975. Physiological principles of dryland crop production. In: *Physiological aspects of dryland farming*. GUPTA, U.S. (ed.).Oxford publ. Oxford , pp. 3-146.
- AVRON, M. 1981. Photosynthetic electron transporte and phosphorylation. In: *Photosynthesis. The biochemistry of plants, a comprehensive treatise*. HATCH, M. D. & BOARDMAN, N. K. (eds.). Academic Press. New York. v. 8, pp. 164-193.
- BALDOCCHI, D. 1994. A comparative study of mass and energy exchange rates over a closed C₃ (wheat) and a open C₄ (corn) crop: II. CO₂ exchange and water use efficiency. *Agricultural and Forest Meteorology*, 67: 291-321.
- BECK, E. & ZIEGLER, P. 1989. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40: 95-117.
- BENNETT, J. 1991. Protein phosphorylation in green plant chloroplasts. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 281-311.
- BENSON, A. A. & BENSON-CALVIN, M. 1950. Carbon dioxide fixation by green plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 1: 25-40.

-
- BETHKE, P. C., GILROY, S. & JONES, R. L. 1995. Calcium and plant hormone action. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 298-317.
- BJÖRKMAN, O., BADGER, M. R. & ARMOND, P. A. 1980. Response and adaptation of photosynthesis to high temperatures. In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. TURNER, N. C. & KRAMER, P. J. (eds.) Wiley publ. New York. pp. 233-249.
- BJÖRKMAN, O., NOBS, M. A. & PEARCE, R. W. 1971. Hybrids between Atriplex species with or without B-carboxylation photosynthesis. *Carnegie Institut Washington Year Book*, 69 : 624-648.
- BLACK, C. C. 1973. Photosynthetic carbon fixation in relation to net CO₂ uptake. *Annual Review of Plant Physiology*, 24 : 253-286.
- BOLAÑOS, J. & EDMEADES, G. O. 1995. Melhoramento do milho para tolerância a seca. In: *Simpósio internacional sobre estresse ambiental: o milho em perspectiva*. MACHADO, A. T., MAGNAVACA, R., PANDEY, S. & FERREIRA DA SILVA, A. (eds.) CNPMS-EMBRAPA./CMMYT-UNDP. Sete Lagoas. pp. 395-432.
- BOYER, C. 1996. Biochemical genetics of carbohydrate metabolism in source and sink tissue. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 341-367.
- BOYER, J. S. 1976. Water deficits and photosynthesis. In: *Water deficits and plant growth*. KOZLOWSKI T. T. (ed.). Academic Press. New York. v. IV, pp. 153-190.
- BOWLER, C. & CHUA, N. -M. 1994. Emerging themes of plant signal transduction. *The Plant Cell*, 6 : 1529-41.
- BRAY, E. A. 1993. Update on water deficit. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiology*, 103 : 1035-1040.
- BRENNER, M. L. & CHEIKH, N. 1995. The role of hormones in photosynthate partitioning and seed filling. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 649-670.

-
- BRODL, M. R. 1990. Biochemistry of heat shock responses in plants. In: *Environmental injury to plants*. KATTERMAN, F. (ed.). Academic Press. New York. pp. 113-135.
- BROWN, R. H. & BYRD, G. T. 1993. Estimation of bundle sheath cell conductance in C₄ species and O₂ insensitivity of photosynthesis. *Plant Physiology*, 103 : 1183-88.
- BRYCE, J. H. & THORNTON, J. M. 1996. Respiration and growth metabolism. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 43-62.
- BUCHANAN-WOLLASTON, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, 48 : 181-199.
- CALLIS, J. 1995. Regulation of protein degradation. *The Plant Cell*, 7 : 845-857.
- CAMARGO, A. P. 1962. Contribuição para a determinação da evapotranspiração potencial no estado de São Paulo. *Bragantia*, 21 : 163-213.
- CAMPBELL, W. J. & OGREN, W. L. 1995. Rubisco activase activity in spinach leaf extracts. *Plant Cell Physiology*, 36 : 215-220.
- CASTRO, P. R. C. & MALAVOLTA, E. 1977. Influence of growth regulators upon mineral nutrition, osmotic potential, and incidence of blossom-end rot of tomato fruit. *Turrialba*, 27 : 273-276.
- CERANA, R., GIROMINI, L. & COLOMBO, R. 1995. Malate-regulated channels permeable to anions in vacuoles of *Arabidopsis thaliana*. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22 : 115-121.
- CHALOUPKOVÁ, K. & SMART, C. C. 1994. The abscisic acid induction of a novel peroxidase is antagonized by cytokinin in *Spirodela polyrrhiza* L. *Plant Physiology*, 105 : 497-507.
- CHAMPIGNY, M. -L. & MOYSE, A. 1983. Les différents types métaboliques végétaux et l'assimilation du CO₂, leur diversité botanique. *Bulletin de la Société Botanique Française* 130. *Actualités botaniques*, 1 : 71-83.
- CHEIKH, N. & JONES, R. J. 1994. Disruption of maize kernel growth and development by heat stress. Role of cytokinin/ abscisic acid balance. *Plant Physiology*, 106: 45-51.

-
- CLARK, R. B. 1991. Physiology of cereals for mineral nutrient uptake, use, and efficiency. In: *Crops as enhancers of nutrient use*. DUNCAN, R. R. & BALIGAR, V. C. (eds.). Academic Press. San Diego. pp. 131-209.
- COTÉ, G. G. 1995. Signal transduction in leaf movement. *Plant Physiology*, 109: 729-734.
- COUSSON, A., COTELLE, V. & VAVASSEUR, A. 1995. Induction of stomatal closure by vanadate or light/dark transition involves Ca^{+2} -calmodulin-dependent protein phosphorylations. *Plant Physiology*, 109: 491-497.
- DAI, Z., KU, M. S. B. & EDWARDS, G. E. 1993. C_4 Photosynthesis, the CO_2 -concentration mechanism and photorespiration. *Plant Physiology*, 103: 83-90.
- DAETER, W., SLOVIK, S. & HARTUNG, W. 1993. The pH gradients in the root system and the abscisic acid concentration in the xylem and apoplastic saps. *Philosophy Transactions of the Royal Society of London*, 341: 49-56.
- DALLING, M. J. 1985. The physiological basis of nitrogen distribution during grain filling in cereals. In: *Exploitation of physiological and genetic variability to enhance crop productivity*. HARPER, J. E., SCHRADER, L. E. & HOWELL, R. W. (eds.). American Society of Plant Physiology. Rockville. pp. 55-78.
- DAVIES, W. J., MANSFIELD, T. A. & HETHERING, A. M. 1990. Sensing of soil water status and the regulation of plant growth and development. *Plant Cell and Environment*, 13: 709-719.
- de WIT, C. T. 1958. *Transpiration and crop yield*. Versl. Landbouk 64. Onderz. Wageningen.
- DOORENBOS, J. & PRUIT, W. O. 1977. Crop water requirements. *Irrigation and Drainage Papers* 24. FAO. Roma.
- DOORENBOS, J. & KASSAM, A. H. 1979. Yield response to water. *Irrigation and Drainage Papers* 33. FAO. Roma.
- DOVE, L. D. 1969. Phosphate absorption by air-stressed root systems. *Planta* 86: 1-9.

-
- DUBEY, R. S. 1994. Protein synthesis by plants under stressful conditions. In: *Handbook of plant and crop stress*. PESSARAKLI, M. (ed.). Marcel Dekker. New York. pp. 277-301.
- DUNCAN, R. R. & BALIGAR, V. C. 1991. Genetic and physiological basis of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: *Crops as enhancers of nutrient use*. DUNCAN, R. R. & BALIGAR, V. C. (eds.). Academic Press. San Diego. pp. 3-38.
- EDWARDS, G. E. & HUBER, S. C. 1981. The C_4 pathway. In: *Photosynthesis. The biochemistry of plants, a comprehensive treatise*. HATCH, M. D. & BOARDMAN, N. K. (eds.). Academic Press. New York. vol. 8, pp. 238-282.
- EDWARDS, G. E. & WALKER, D. A. 1983. C_3 , C_4 : mechanisms, and cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell Scientific Publication. London.
- EVANS, L. T. 1975. *Crop Physiology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- FAGERIA, N. K. 1992. *Maximizing crop yields*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- FARQUHAR, G. D., EHLERINGER, J. R. & HUBICK, K. T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40 : 503-537.
- FERNANDES, J. M. C., PRESTES, A. M. & PICININI, E. C. 1997. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 5 : 235-280.
- FERNANDES, M. S. & ROSSIELLO, R. O. P. 1995. Mineral nutrition in plant physiology and plant nutrition. *Critical Reviews of Plant Science*, 14 : 111-148.
- FERRI, M. G. 1944. Transpiração de plantas permanentes do cerrado. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras da Universidade de São Paulo*, 41, Botânica, 4 : 161-224.
- FERRI, M. G. 1955. Contribuição ao conhecimento da ecologia do cerrado e da caatinga. Estudo comparativo da economia de água de sua vegetação. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras da Universidade de São Paulo*, 41, Botânica, 12 : 1-170.

-
- FERRI, M. G. 1979. *Fisiologia Vegetal*. Editora Pedagógica Universitária. São Paulo.
- FISCHER, R. A. & TURNER, N. C. 1978. Plant productivity in the arid and semi-arid zones. *Annual Review of Plant Physiology*, 29 : 277-317.
- FOYER, C. H. & GALTIER, N. 1996. Source-sink interaction and communication in leaves. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 311-340.
- FRANCOIS, L. E. & MAAS, E. V. 1994. Crop response and management on salt-affected soils. In: *Handbook of plant and crop stress*. PESSARAKLI, M. (ed.). Marcel Dekker. New York. pp. 149-182.
- FRANCO, C. M. & MAGALHÃES, A. C. 1963. Inconveniências do método das pesagens rápidas para a medida da transpiração. *Fiton*, 20 : 87-96.
- FRANCO, C. M. 1965. Fisiologia do cafeeiro. In: *Cultura e adubação do cafeeiro*. Instituto Brasileiro de Potassa. São Paulo.
- FURBANK, R. T., JENKINS, C. L. D. & HATCH, M. D. 1990. C₄ Photosynthesis: quantum requirement, C₄ acid overcycling and Q-cycle involvement. *Australian Journal of Plant Physiology*, 17 : 1-7.
- FURBANK, R. T. & TAYLOR, W. C. 1995. Regulation of photosynthesis in C₃ and C₄ plants: a molecular approach. *The Plant Cell*, 7 : 797-807.
- GALSTON, A.W. & KAUR-SAWHNEY, R. 1995. Polyamines as endogenous growth regulators. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 158-178.
- GEURTS, R. & FRANSEN, H. 1996. Signal transduction in *Rhizobium* - induced nodule formation. *Plant Physiology*, 112 : 447-453.
- GHOSH, S., GEPSTEIN, S., GLICK, B. R., HEIKKILA, J. J. & DUMBROFF, E. B. 1989. Thermal regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in C₃ and C₄ plants native to hot and temperate climates. *Plant Physiology*, 90 : 1298-1304.
- GOEDERT, W. J., LOBATO, E. & WAGNER, E. 1980. Potencial agrícola da região dos cerrados brasileiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 15 : 1-17.

-
- GOMBOS, Z., WADA, H. HIDEG, E. & MURATA, N. 1994. The unsaturation of membrane lipids stabilizes photosynthesis against heat stress. *Plant Physiology*, 104 : 563-567.
- GOVINDJEE, A. J. & FORK, K. 1986. *Light emission by plants and bacteria*. Academic Press. New York.
- GUNASEKERA, D. & BERKOWITZ, G. A. 1993. Use of transgenic plants with Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology*, 103 : 629-635.
- GUPTA, S. C. & BEEVERS, L. 1985. Regulation of nitrite reduction. In: *Exploitation of physiological and genetic variability to enhance crop productivity*. HARPER, J. E., SCHRADER, L. E. & HOWELL, R. W. (eds.). American Society of Plant Physiology. Rockville. pp. 1-11.
- GUTTERIDGE, S. & GATENBY, A. A. 1995. Rubisco synthesis, assembly, mechanism, and regulation. *The Plant Cell*, 7 : 809-819.
- HABERLANDT, G. 1884. *Physiological plant anatomy*. (Trad. por DRUMMOND, M.) Macmillan Publication. London.
- HALL, D. O. & RAO, K. K. 1994. *Photosynthesis. Studies in biology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- HAMMOND-KOSACK, K. E. & JONES, J. D. G. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, 8 : 1773-1791.
- HANSON, A. D. & HITZ, W. D. 1982. Metabolic responses of mesophytes plants to water deficits. *Annual Review of Plant Physiology*, 33 : 163-203.
- HARTUNG, W., ZHANG, J. & DAVIES, W. J. 1994. Does abscisic acid play a stress physiological role in maize plants growing in heavily compacted soil? *Journal of Experimental Botany*, 45 : 221-226.
- HATCH, M. D. e SLACK, C. R. 1966. Photosynthesis in sugarcane leaves. A new carboxylation reaction and the pathway of sugar formation. *Biochemistry Journal*, 101: 103-111.
- HATCH, M. D. 1976. The pathway of photosynthesis: mechanism and function. In: *Metabolism and plant productivity*. BLACK, C. C. e BURRIS, R. H. (eds.). University Park Press. New York. pp. 59-82.

-
- HAWKER, J. S., JENNER, C. F. & NIEMIETZ, C. M. 1991. Sugar metabolism and compartmentation. *Australian Journal of Plant Physiology*, 18 : 227-37.
- HENDRIX, J. E. 1994. Assimilate transport and partitioning. In: *Handbook of plant and crop physiology*. PESSARAKLI, M. (ed.) Marcel Dekker. New York. pp. 357-385.
- HILLEL, D. 1990. Role of irrigation in agricultural systems. In: *Irrigation of agricultural crops*. STEWART, B. A. & NIELSEN, D. R. (eds.) American Society of Agronomy. Madison. pp. 5-30.
- HO, L. C., GRANGE, R. I. & SHAW, A. F. 1989. Source/sink regulation. In: *Transport of photoassimilates*. BAKER, D. A. & MILBURN, J. A. (eds.), Longman Scientific & Technical. Essex, pp. 306-343.
- HSIAO, T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24 : 519-570.
- HSIAO, T. C. 1990. Measurements of plant water status. In: *Irrigation of agricultural crops*. STEWART, B. A. & NIELSEN, D. R. (eds.) American Society of Agronomy. Madison. pp. 244-280.
- HUBER, S. C. 1986. Fructose 2,6-bisphosphate as a regulatory metabolite in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 37 : 233-46.
- HUBER, S. C., SUGYAMA, T. & ALBERTE, R. S. 1989. Photosynthetic determinants of growth in maize plants: effects of nitrogen nutrition on growth, carbon fixation and photochemical features. *Plant Cell Physiology*, 30 : 1063-1072.
- JACOBY, B. 1994. Nutrient uptake by plants. In: *Handbook of plant and crop physiology*. PESSARAKLI, M. (ed.) Marcel Dekker. New York. pp. 1-22.
- JAEGHER, G. de & BOYER, N. 1990. On the role of membranes and calcium in signal perception and transduction in thigmomorphogenesis of *Bryonia dioica*. In: *Intra-and intercellular communications in plants*. MILLET, B. & GREPPIN, H. (eds.). INRA publ. Paris. pp. 29-39.
- KASAMO, K. & SAKAKIBARA, Y. 1995. The plasma membrane H⁺-ATPase from higher plants: functional reconstitution into liposomes and its regulation by phospholipids. *Plant Science*, 111: 117-131.

-
- KELLY, C. K. & WOODWARD, F. I. 1995. Ecological correlation of carbon isotope composition of leaves: a comparative analysis testing for the effects of temperature, CO₂ and O₂ partial pressure and taxonomic relatedness on $\delta^{13}\text{C}$. *Journal of Ecology*, 83 : 509-515.
- KENNEDY, R. A. 1976. The effects of NaCl, polyethyleneglycol, and naturally-induced water stress on photosynthetic products, photosynthetic rates, and CO₂ compensation points in C₄ plants. *Z. Pflanzenphysiologie*, 83 : 11-24.
- KLEE, H. J. & LANAHAN, M. B. 1995. Transgenic plants in hormone biology. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 340-351.
- KNIEP, K. R. & MASON, S. C. 1991. Lysine and protein content of normal and Opaque-2 maize grain as influenced by irrigation and nitrogen. *Crop Science* 31: 177-181.
- KOßMANN, J., MÜLLER-RÖBER, B., RIESMEIER, J. W. & WILLMITZER, L. 1996. Potential for modifying source-sink interactions through the genetic manipulation of carbohydrate metabolism. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 369-387.
- KORSTSCHAK, H. P., HARTT, C. E. & BURR, G. O. 1965. Carbon dioxide fixation in sugarcane leaves. *Plant Physiology*, 40 : 209-213.
- KRAMER, P. J. & BOYER, J. S. 1995. *Water relations of plants and soils*. Academic Press. San Diego.
- KRÖMER, S. 1995. Respiration during Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 46 : 45-71.
- KRUSE, E. G., BUCKS, D. A. & von BERNUTH, R. D. 1990. Comparison of irrigation systems. In: *Irrigation of agricultural crops*. STEWART, B. A. & NIELSEN, D. R. (eds.) American Society of Agronomy. Madison. pp. 475-508.
- LAWLOR, D. W. 1993. *Photosynthesis. Metabolism, Control and Physiology*. Longman Publication. Harlow.

-
- LEEGOOD, R. C. 1996. Primary photosynthate production: physiology and metabolism. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker, New York. pp. 21-42.
- LEVY, M. & ADAM, Z. 1995. Mutations in the processing site of the precursors of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit: effects on import, processing, assembly and stability. *Plant Molecular Biology*, 29 : 53-61.
- LEW, R. R. 1995. Regulation of electrical coupling between *Arabidopsis* root hairs. *Planta*, 193 : 67-73.
- LORIMER, G. H., BADGER, M. R. & ANDREWS, T. J. 1977. D-Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Analytical Biochemistry*, 78 : 66-75.
- LORIMER, G. H. & ANDREWS, T. J. 1981. The C₂ chem- and photorespiration carbon oxidation cycle. In: *Photosynthesis. The biochemistry of plants, a comprehensive treatise*. HATCH, M. D. & BOARDMAN, N. K. (eds.) Academic press. New York. v. 8, pp. 330-375.
- LUCCHESI, A. A. 1987. Fatores da produção vegetal. In: *Ecofisiologia da produção agrícola*. CASTRO, P. R. C., FERREIRA, S. O. & YAMADA, T. (eds.) Potafos. Piracicaba. pp. 1-9.
- LUDLOW, M. M. 1976. Ecophysiology of C₄ grasses. In: *Ecological studies. Water and plant life. Problems and modern approach*. LANGE, O. L., KAPPEN, L. & SCHULZE, E.-D. (eds.) Springer-Verlag. Berlin. v. 19, pp. 364-386.
- LUDLOW, M. M. & POWLES, S. B. 1988. Effects of photoinhibition induced by water stress on growth and yield of grain sorghum. *Australian Journal of Plant Physiology*, 15 : 179-194.
- LÜTTGE, U., KLUGE, M. & BAUER, G. 1996. *Botanique. Traité fondamental*. (Trad. de SIEFFERT, V. A.). Lavoisier, Tec & Doc. Paris.
- MACCREE, K. J., KALLSEN C. E. & RICHARDSON, S. G. 1984. Carbon balance of sorghum plants during osmotic adjustment to water stress. *Plant Physiology*, 76 : 898-902.

-
- MADORE, M. A. 1994. Carbohydrate synthesis and crop metabolism. In: *Handbook of plant and crop physiology*. PESSARAKLI, M. (ed.) Marcel Dekker. New York. pp. 257-273.
- MAESTRI, M. & BARROS, R. S. 1977. Coffee. In: *Ecophysiology of tropical crops*. ALVIM, P. de T. & KOZLOWSKI, T. T. (eds.). Academic Press. New York. pp. 249-278.
- MAGALHÃES, A. C. N., ASHTON, F. M. & FOY, C. L. 1968. Translocation and fate of dicamba in purple nutsedge. *Weed Science*, 16 : 240-245.
- MAGALHÃES, A. C. N. 1979. Fotossíntese. in: *Fisiologia Vegetal*. FERRI, M. G. (ed.) Editora Pedagógica Universitária. São Paulo. pp. 117-180.
- MAGALHÃES, J. R. & HUBER, D. M. 1989. Ammonium assimilation in different plant species as affected by nitrogen form and pH control in solution culture. *Fertility research*, 21 : 1-6.
- MAKINO, A. 1994. Biochemistry of photosynthesis in higher plants. *Journal of Plant Research*, 107 : 79-84.
- MANSFIELD, T. A. & MCAINSH, M. R. 1995. Hormones as regulators of water balance. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 598-616.
- MARSCHNER, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press. San Diego.
- MICHELET, B. & BOUTRY, M. 1995. The plasma membrane H⁺-ATPase. A highly regulated enzyme with multiple physiological functions. *Plant Physiology*, 108 : 1-6.
- MILBURN, J. A. & KALLARACKAL, J. 1989. Physiological aspects of phloem translocation. In: *Transport of photoassimilates*. BAKER, D. A. & MILBURN, J. A. (Eds.), Longman Scientific & Technical. Essex. pp. 264-305.
- MIRANDA, L. T. de. 1972. *A característica "latência" do milho (*Zea mays* L.) e suas possibilidades no melhoramento*. Tese de Doutorado, ESALQ, Piracicaba.
- MOCK, J. J. & PEARCE, R. B. 1975. An ideotype of mayze. *Euphytica*, 24 : 613-623.

-
- MORRIS, D. A. 1996. Hormonal regulation of source-sink relationships: an overview of potential control mechanisms. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 441-466.
- MORGAN, J. M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35 : 299-319.
- MÜNCH, E. 1930. *Die stoffbewegungen in der pflanze*. Gustav Fischer. Jena.
- NII, N., WATANABE, T., YAMAGUCHI, K. & NISHIMURA, M. 1995. Changes of anatomical features, photosynthesis and ribulose-1,5-carboxylase-oxygenase content of mango leaves. *Annals of Botany*, 76 : 549-656.
- NEVES, M. C. P. & HUNGRIA, M. 1987. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. *Critical Reviews of Plant Science*, 6 : 267-321.
- NOBEL, P. S. 1991. *Physicochemical and environmental plant physiology*. Academic Press. New York.
- NORMAN, M. J. T., PEARSON, C. J. & SEARLE, P. G. E. 1995. *The ecology of tropical food crops*. Cambridge University Press. Cambridge.
- OGREN, W. L. 1984. Photorespiration: pathways, regulation, and modification. *Annual Review of Plant Physiology*, 35 : 415-442.
- O'LEARY, M. H. 1982. Phosphoenolpyruvate carboxylase: an enzymologist's view. *Annual Review of Plant Physiology* . 33 : 291-315.
- OLIVA, M. A., LOPES, N. F. & FAÇANHA, J. G. V. 1984. Avaliação da resistência à seca de Eucalyptus spp., mediante termometria à infravermelho. *Revista Árvore*, 8 : 112-122.
- OLIVEIRA, J. B. B. & LABOURIAU, L. G. 1961. Transpiração de algumas plantas da caatinga aclimatadas no Jardim Botânico do Rio de Janeiro. I. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 33 : 351-398.
- OSMOND, C. B., BJÖRKMAN, O. & ANDERSON, J. 1980. Water movement and plant response to water stress. In: *Ecological studies. Physiological process in plant ecology, towards a synthesis with Atriplex*. Springer Verlag. Berlin, v. 36, pp. 251-90.

-
- OSMOND, C. B., & HOLTUM, J. A. M. 1981. Crassulacean acid metabolism. in: *Photosynthesis. The biochemistry of plants, a comprehensive treatise*. HATCH, M. D. & BOARDMAN, N. K. (eds.) Academic Press. New York, v. 8, pp. 283-328.
- OSMOND, C. B., WINTER, K. & ZIEGLER, H. 1982. Functional significance of different pathways of fixation in photosynthesis. In: *Physiological plant ecology II. Water relations and carbon assimilation*. LANGE, O. L. NOBEL, P. S., OSMOND, C. B. & ZIEGLER, H. (eds.) Springer-Verlag. Berlin, pp.480-547.
- PASSIOURA, J. B. 1986. Resistance to drought and salinity: avenues for improvement. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13 : 191-201.
- PASSIOURA, J. B. 1996. Drought and drought tolerance. In: *Drought tolerance in higher plants: genetical, physiological, and molecular biological analysis*. BELHASSEN, E. I. (ed.) Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp.1-6.
- PATE, J. S. 1996. Photoassimilate partitioning and consumption in nitrogen-fixing crop legumes. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 467-478.
- PATERNIANI, E. 1990. Maize breeding in the tropics. *Critical Reviews of Plant Science*, 9: 124-154.
- PEISKER, M. & HENDERSON, S. A. 1992. Carbon: terrestrial plants. *Plant, Cell Environment*, 15 : 987-1004.
- PELL, E. J. & DANN, M. S. 1990. Multiple stress-induced foliar senescence and implications for whole-plant longevity. In: *Environmental injury to plants*. KATTERMAN, F. (ed.). Academic Press. San Diego. pp. 189-205.
- PEÑARRUBIA, L. & MORENO, J. 1994. Senescence in plants and crops. In: *Handbook of plant and crop physiology*. PESSARAKLI, M. (ed.) Marcel Dekker. New York. pp. 461-482.
- PENG, S., D. R. KRIEG & F. S. GIRMA. 1991. Leaf photosynthetic rate is correlated with biomass and grain production in grain sorghum lines. *Photosynthesis Research*, 28 : 1-7.

-
- PFEFFER, W. 1900. *Physiologie végétale*. v. I. (Trad. por FRIEDEL, J.) G. STEINHEIL. Paris.
- PHAM THI, A. T., PIMENTEL, C. & VIEIRA DA SILVA, J. B. 1982. Effects of water stress on photosynthesis and photorespiration of Atriplex nummularia, a C₄ plant. *Photosynthetica*, 16: 334-342.
- PICKETT, F. B. & MEEKS-WAGNER. 1995. Seeing double: appreciating genetic redundancy. *The Plant Cell*, 7: 1347-1356.
- PIMENTEL, C. 1985. *Contribution à l'étude de la photosynthèse et la photorespiration, chez trois espèces d'Atriplex, deux possédant la voie en C₄ et la troisième, la voie en C₃*. Tese de Doutorado da Universidade de Paris 7, Paris.
- PIMENTEL, C, LOUGUET, P. & LAFFRAY, D. 1995. Trocas gasosas diurna e em 4 estádios de desenvolvimento, em Phaseolus vulgaris L., cv. carioca. dos *Resumos do V Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal*. UFPA-Lavras. pp. 364.
- PIMENTEL, C. & ROSSIELO, R. O. P. 1995. Entendimento sobre relações hídricas. In: *Simpósio internacional sobre estresse ambiental: o milho em perspectiva*. MACHADO, A. T., MAGNAVACA, R., PANDEY, S. & DA SILVA, A. F. (eds.). EMBRAPA/CNPMS/CIMMYT/UNDP. Sete Lagoas. pp. 132-146.
- POLJAKOFF-MAYBER, A. & LERNER, H. R. 1994. Plants in saline environments. In: *Handbook of plant and crop stress*. PESSARAKLI, M. (ed.). Marcel Dekker. New York. pp. 65-96.
- PORTIS JR., A. R. 1992. Regulation of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase activity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43: 415-437.
- POWER, J. F. 1990. Role of moisture stress in plant nutritional functions. In: *Crops as enhancers of nutrient use*. BALIGAR, V. C. & DUNCAN, R. R. (eds.) Academic press. San Diego. pp. 453-474.
- PREMACHANDRA, G. S., SANEOKA, H. & OGATA, S. 1991. Cell membrane stability and leaf water relations as affected by potassium nutrition of water stressed maize. *Journal of Experimental Botany*, 42: 739-745.

-
- PUGNAIRE, F. I., ENDOLZ L. S. & PARDOS J. 1994. Constrains by water stress on plant growth. In: *Handbook of plant and crop stress*. PESSARAKLI, M. (ed.) Marcel Dekker Inc. New York. pp. 247-260.
- RABE, E. 1994. Altered nitrogen metabolism under environmental stress conditions. In: *Handbook of plant and crop stress*. PESSARAKLI, M. (ed.). Marcel Dekker. New York. pp. 261-275.
- RAINES, C. A., LLOYD, J. C. & DYER, T. A. 1991. Molecular biology of the C₃ photosynthetic carbon reduction cycle. *Photosynthesis Research*, 27: 1-14.
- RAO, I. M., FREDEEN, A. L. & TERRY, N. 1990. Leaf phosphate status, photosynthesis, and carbon partitioning in sugar beet. III. Diurnal changes in carbon partitioning and carbon export. *Plant Physiology*, 92: 29-36.
- RAYBOULD, A. F. & GRAY, A. J. 1994. Will hybrids of genetically modified crops invade natural communities? *Trends in Ecological Evolution*, 9: 85-89.
- REID, M. S. 1995. Ethylene in plant growth, development and senescence. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp.486-508.
- RENA, A. B. & MASCIOTTI, G. Z. 1976. Efeito do deficit hídrico sobre o metabolismo do nitrogênio e o crescimento de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Ceres*, 23: 288-301.
- RICHARD, J. H. & TEERI, J. A. 1984. Re-evaluation of proposed C₄ photosynthetic characteristics in the genus *Larix*. *Physiologia Plantarum*, 55: 117-120.
- RICHTER, G. 1993. *Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie*. (Trad. de RAYMOND, G.). Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.
- RISTIC, Z., GIFFORD, D. J. & CASS, D. D. 1991. Heat shock proteins in two lines of *Zea mays* L. that differ in drought and heat resistance. *Plant Physiology*, 97: 1430-1434.
- RIZZINI, C. T. 1997. *Tratado de fitogeografia do Brasil*. Âmbito cultural edições. Rio de Janeiro.

-
- ROGERS, H. J. & PARKES, H. C. 1995. Transgenic plants and the environment. *Journal of Experimental Botany*, 46: 467-488.
- SAGE, R. F., SHARKEY, T. D. & PEARCY, R. W. 1990. The effect of leaf nitrogen and temperature on the CO₂ response of photosynthesis in the C₃ dicot Chenopodium album L. *Australian Journal of Plant Physiology*, 17: 135-148.
- SAXENA, K. G. & RAMAKRISHNAM, P. S. 1983. C₃-C₄ species distribution among successional herbs following slash and burn in North-eastern India. *Oecologia Plantarum*, 5: 335-346.
- SCHRADER, L. E. 1985. Selection for metabolic balance in maize. In: *Exploitation of physiological and genetic variability to enhance crop productivity*. HARPER, J. E., SCHRADER, L. E. & HOWELL, R. W. (eds.). American Society of Plant Physiology publ. pp. 79-89.
- SCHROEDER, J. I. 1995. Anion channels as central mechanisms for signal transduction in guard cells and putative functions in roots for plant-soil interactions. *Plant Molecular Biology*, 28: 353-36.
- SILVA, F. L. I. M. & MAGALHÃES, J. R. 1989. Análise de sensibilidade dos parâmetros utilizados na simulação de absorção de fósforo pelo tomateiro, com o modelo matemático de Cushma-Barber. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 13: 315-320.
- SILVEIRA, P. M. DA, PORTES E CASTRO, T. DE A. & STONE, L. F. 1980. Idade de floração e vingamento de flores em duas cultivares de feijão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 15: 229-232.
- SINCLAIR, T. R. & HORIE, T. 1989. Crop physiology & metabolism. leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: A Review. *Crop Science*, 29: 90-98.
- SIQUEIRA, J. O. & FRANCO, A. A. 1988. *Biotecnologia do solo. Fundamentos e perspectivas*. MEC/ ABEAS/ ESAL/ FAEPE. Lavras.
- SIVAK, M. N., LEEGOOD, R. C. & WALKER, D. A. 1989. Transport of photoassimilates within photosynthetic cells. In: *Transport of photoassimilates*. BAKER, D. A. & MILBURN, J. A. (eds.), Longman Scientific & technical. Essex. pp. 1-48 .

-
- SLATYER, R. O. 1970. Comparative photosynthesis, growth and transpiration of two species of *Atriplex*. *Planta*, 93 : 175-189.
- SONNEWALD, U., LERCHL, J., ZRENNER, R., FROMMER, W. 1994. Manipulation of sink-source relations in transgenic plants. *Plant, Cell Environment*, 17 : 649-658.
- SOUZA, S. R., STARK, E. M. L. M. & FERNANDES, M. S. 1993. Effects of supplemental-nitrogen on the quality of rice proteins. *Journal of Plant Nutrition*, 16 : 1739-51.
- STARCK, Z., WAZYNSKA, Z. & KUCEWICZ, O. 1993. Comparative effects of heat stress on photosynthesis and chloroplast ultrastructure in tomato plants with source-sink modulated by growth regulators. *Acta Physiologiae Plantarum*, 15 : 125-133.
- STASWICK, P. E. 1995. Jasmonate activity in plants. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 179-187.
- STEUDLE, E. & HENZLER, T. 1995. Water channels in plants: do basic concepts of water transport change? *Journal of Experimental Botany*, 46 : 1067-1076.
- STOECKEL, H. & TAKEDA, K. 1990. Are ion channels involved in the perception of stimuli and signal transduction? New perspectives offered by the patch-clamp technique, In: *Intra-and intercellular communications in plants*. MILLET, B. & GREPPIN, H. (eds.). INRA. Paris. pp. 13-27.
- STRYER, I. 1995. *Biochemistry* (4th edition). W. H. Freeman and Company. New York.
- SUBBARAO, G. V., JOHANSEN, C., SLINKARD, A. E., RAO, R. C. N., SAXENA, N. P. & CHAUHAN, Y. S. 1995. Strategies for improving drought resistance in grain legumes. *Critical Reviews of Plant Science*, 14 : 469-524.
- TAMAS, I. A. 1995. Hormonal regulation of apical dominance. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. DAVIES, P. J. (Ed.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. pp. 572-597.

-
- THIMANN, K. V. & SKOOG, F. 1934. On the inhibition of bud development and other functions of growth substances in *Vicia faba*. *Proceedings of the Royal Society*, 114 : 317-339.
- TOLBERT, N. E. 1981. Metabolic pathways in peroxisome and glyoxysomes. *Annual Review of Biochemistry*, 50 : 133-157.
- TURNER, N. C. & JONES, M. M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. TURNER, N. C. & KRAMER, P. J. (eds.) Wiley and Sons. New York, pp. 87-103.
- VÁCHA, F. 1995. The role of oxygen in photosynthesis. *Photosynthetica*, 31: 321-334.
- VANCE, C. P. & HEICHEL, G. H. 1991. Carbon in N₂ fixation: limitation of exquisite adaptation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42 : 373-392.
- VAN DER WERF, A. 1996. Growth analysis and photoassimilate partitioning. In: *Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships*. ZAMSKI, E. & SCHAFFER, A. A. (eds.). Marcel Dekker. New York. pp. 1-20.
- VERHEY, S. T. & LOMAX, T. L. 1993. Signal transduction in vascular plants. *Journal of Plant Growth Regulators*, 12 : 179-195.
- VIEIRA DA SILVA, J. 1976. Water stress, ultrastructure and enzymatic activity. In: *Ecological studies. Water and plant life. Problems and modern approach*. LANGE, O. L., KAPPEN, L. & SCHULZE, E.-D. (eds.) Springer-Verlag, Berlin. v. 19, pp.207-224.
- VIERLING, E. 1991. The role of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42 : 579-620.
- VIERSTRA, R. D. 1996. Proteolysis in plants: mechanisms and functions. *Plant Molecular Biology*, 32: 275-302.
- VOSE, P. B. 1990. Plant nutrition relationships at the whole-plant level. In: *Crops as enhancers of nutrient use*. BALIGAR, V. C. & DUNCAN R. R. (eds.) Academic press. San Diego. pp. 65-80.

-
- WALDREN, R. P. 1983. Corn. In: *Crop-water relations*. TEARE, I. D. & PEET, M. M. (eds.). Wiley and Sons. New York. pp.187-211.
- WARD, J. M., PEI, Z.-M. & SCHROEDER, J. I. 1995. Roles of ion channels in initiation of signal transduction in higher plants. *The Plant Cell*, 7: 833-844.
- WARDLAW, I. F. 1990. The control of carbon partitioning in plants. *The New Phytologist*, 116: 341-381.
- WESTGATE, M. E. & GRANT, D. L. T. 1989. Water deficits and reproduction in maize. Response of the reproductive tissue to water deficits at anthesis and mid-grain fill. *Plant Physiology*, 91: 862-67.
- WILLEKENS, H., INZÉ, D., VAN MONTAGU, M. & VAN CAMP, W. 1995. Catalase in plants. *Molecular Breeding*, 1: 207-228.
- WHITE, J. W. 1985. Conceptos básicos de genética del frijol. In: *Frijol: investigación y producción*. CIAT. Cali. pp. 43-60.
- WHITE, J. W., CASTILLO, J. A. & EHLERINGER, J. 1990. Associations between productivity, root growth and carbon isotope discrimination in *Phaseolus vulgaris* under water stress. *Australian Journal of Plant Physiology*, 17: 189-198.
- WU, J., NEIMANIS, S. & HEBER, U. 1991. Photorespiration is more effective than the Mehler reaction in protecting photosynthetic apparatus against photoinhibition. *Botanical Acta*, 104: 283-291.
- WU, Y., SPOLLEN, W. G., SHARP, R. E., HETHERINGTON, P. R. & FRY, S. C. 1994. Root growth maintenance at low water potentials. Increased activity of xiloglucan endotransglycosylase and its possible regulation by abscisic acid. *Plant Physiology*, 106: 607-615.
- WULLSCHLEGER, S. D. 1993. Biochemical limitations to carbon assimilation in C₃ plants - a retrospective analysis of the A/Ci curves for 109 species. *Journal of Experimental Botany*, 44: 907-920.
- ZELITCH, I. 1971. *Photosynthesis, photorespiration, and plant productivity*. Academic Press. New York.
- ZELITCH, I. 1973. Alternate pathways of glycolate synthesis in tobacco and maize leaves in relation to the rate of photorespiration. *Plant Physiology*, 51: 299-305.



ARTWARE
PROJETOS ESPECIAIS

