

A Relação da Planta com a Água



Carlos Pimentel

UFRURALRJ



**A RELAÇÃO
DA PLANTA
COM A ÁGUA**

A RELAÇÃO DA PLANTA COM A ÁGUA

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, 2004

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
E-mail: edur@ufrj.br

ISBN: 85-85720-45-X

Coordenação geral: Alberto M. T. Magalhães
Revisão de texto: Angela Portocarrero
Projeto gráfico: Luciana Costa Leite
Ilustrações e gráficos: Carlos Pimentel
Editoria de arte: Artware Projetos Especiais
Foto da capa: Prof. D. Laffray
Estômato fechado de *Brassica campestris*

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 UFRURALRJ

581.5222 P644r Pimentel, Carlos, 1955 -
A relação da planta com a água / Carlos Pimentel. -
Seropédica, RJ: Edur, 2004.
191p.: il.

Bibliografia: p.171-191.

1. Plantas e água. 2. Plantas e solo.
3. Plantas - Efeitos da seca. 4. Plantas - Resistência a seca. I. Título

CHANSON D'AUTOMNE

*Les sanglots longs
Des violons
De l'automne
Blessent mon coeur
D'une langueur
Monotone.*

*Tout suffocant
Et blême, quand
Sonne l'heure,
Je me souviens
Des jours anciens
Et je pleure.*

*Et je m'en vais
Au vent mauvais
Qui m'emporte
Deçà, delà,
Pareil à la
Feuille morte.*

Poema de Paul Verlaine, que lembra Paris,
um banho de cultura, como dizia meu pai.

Dedico:
aos meus pais,
Prof. Paulo Cezar de Almeida Pimentel e
Anieli Maria Niedenthal Pimentel,
pela minha educação;
a minha esposa, Sandra Greenman,
e as minhas três filhas, Aniela, Joana e Marina,
sobretudo pela paciência durante a elaboração deste livro;
e ao Prof. Vieira da Silva,
pela amizade e importante contribuição
na minha formação científica e na elaboração deste livro.

Agradeço:
aos amigos Dr. Alberto M. T. Magalhães,
pela coordenação da pré-impressão do livro,
e ao Prof. D. Laffray, pela gentileza em ceder a foto da capa.



PREFÁCIO

O título deste livro é uma tradução do título do primeiro livro sobre o assunto, escrito pelo russo Prof. N. A. Maximov (traduzido para o inglês pelo Prof. R. H. Yapp), em 1929, que realizou um estudo aprofundado sobre a adaptação de vegetais à deficiência hídrica, e que ainda é uma referência bastante atual em alguns assuntos. O estudo sobre a relação da planta com a água é imprescindível para a melhor compreensão da relação da planta com o meio, pois a disponibilidade hídrica é o principal fator determinante na distribuição das espécies na terra e no potencial produtivo daquelas cultivadas, especialmente em clima tropical. No Brasil, os livros-texto mais utilizados para as disciplinas de fisiologia vegetal, que descrevem a relação da planta com a água, são os livros dos Profs. Klaus Reichardt e Paulo Libardi e, mais recentemente, o livro do Prof. Luís Roberto Angelocci, todos da ESALQ-USP. Os dois primeiros têm formação na área de ciências do solo e, o terceiro, na área de biofísica. Desta forma, estava faltando um texto elaborado por um fisiologista vegetal, para ter-se um outro enfoque da relação da planta com a água, para o ensino tanto na graduação quanto na pós-graduação, nas ciências biológicas e, especificamente, na agronomia e outras profissões que lidam com a agricultura, no Brasil.

Tendo em vista que os livros-texto disponíveis sobre a relação da planta com a água, na área de fisiologia vegetal, foram elaborados por excelentes pesquisadores de países de clima temperado, como o mais recente livro dos Profs. Paul Kramer (falecido) e John Boyer, cuja leitura é altamente recomendável, o enfoque do assunto, nesses textos, é diferente daquele para o ambiente tropical; e, por isto, mais textos enfocando a relação da planta com o ambiente tropical se fazem necessários, para a formação de profissionais da agricultura nas regiões tropicais.

Sumário

INTRODUÇÃO

13

Capítulo 1

ANÁLISE TERMODINÂMICA DO SISTEMA AQUOSO PLANTA

1.1	Introdução	15
1.2	Primeira lei da termodinâmica	19
1.3	Segunda lei da termodinâmica	22
1.4	Entropia e Energia Livre	27
1.5	A condição de equilíbrio	32
1.6	O potencial químico e os sistemas membranares	34
1.7	O potencial químico e a descrição da composição do sistema	39
1.8	A termodinâmica e a relação de tecidos vegetais com a água	42

Capítulo 2

A PLANTA E A ÁGUA

2.1	Funções da água	48
2.2	Propriedades físico-químicas da água	49
2.3	Propriedades de soluções aquosas e outra dedução do potencial da água nos sistemas biológicos	52
2.4	Potencial da água no solo, na planta e na atmosfera	55
2.5	A célula em relação à água	57

Capítulo 3

A ÁGUA NO SISTEMA SOLO-PLANTA-ATMOSFERA (SSPA)

3.1	Introdução	65
3.2	O transporte da água no SSPA	67
3.3	A raiz em relação à água	70
3.4	O movimento da água na raiz	80
3.5	O xilema e o transporte de água	82
3.6	A folha em relação à água	86
3.7	O movimento de água na folha	89
3.8	A camada-limite à folha	90

Capítulo 4

A PERDA DE ÁGUA PELAS PLANTAS E O SEU CONTROLE

4.1	Introdução	92
4.2	A perda de água pela transpiração	93
4.3	Os estômatos e o controle da perda de água na transpiração	98
4.4	Regulação do movimento dos estômatos por fatores internos e externos e seu custo energético	111
4.5	A eficiência no uso de água	114

Capítulo 5

RESPOSTAS DAS PLANTAS À SECA

5.1	Introdução	119
5.2	A falta d'água e a produção agrícola	121
5.3	O que é seca?	123
5.4	Como estudar as respostas da planta à seca?	125
5.5	Quais as respostas à seca estudar?	129
5.6	Variáveis indicadoras da resposta da planta ao estresse por seca	138
5.7	Em que estágio de desenvolvimento estudar as respostas da planta à seca?	141

Capítulo 6

RESPOSTAS ADAPTATIVAS DAS PLANTAS À DEFICIÊNCIA HÍDRICA

6.1	Introdução	144
6.2	Quais as respostas adaptativas à seca estudar para a espécie em questão?	148
6.3	Principais respostas adaptativas para a tolerância à seca	151
6.4	Perspectivas para o aumento da produtividade agrícola em áreas marginais	164

BIBLIOGRAFIA

Literatura citada e recomendada	171
Outra bibliografia citada no texto	171

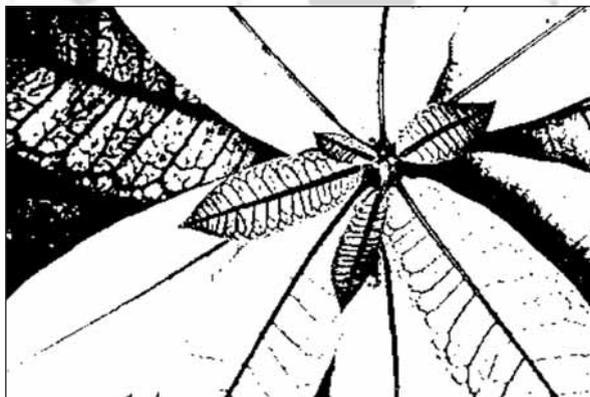
INTRODUÇÃO

A água é a substância fundamental à vida, tal qual conhecemos, e é uma das primeiras substâncias a serem procuradas como indicio da possibilidade de vida em outros planetas, por exemplo, como se viu recentemente com a discussão sobre a vida em Marte, baseada em estudos feitos por sondas espaciais. Na Terra, os primeiros seres vivos surgiram nos oceanos, como vegetais evoluindo para animais, e passando a colonizar a superfície terrestre, com adaptações a este ambiente inóspito e seco. A importância da água nos sistemas biológicos é devida às propriedades físico-químicas únicas da sua molécula, como o alto valor de calor específico e de vaporização, o que estabiliza a temperatura de um sistema, como a biosfera, com a evaporação da água dos oceanos, permitindo a vida animal e vegetal, ou como a folha, com o resfriamento desta devido à transpiração. Sobretudo a partir de agora, com as previsões climáticas de aumento da concentração de CO_2 atmosférico e da temperatura do ar em 2°C , haverá maiores variações climáticas, com secas mais frequentes, causando um grande efeito na relação da planta com o meio, a economia de água potável é imprescindível para a agricultura e para o homem. Assim, o estudo da relação da planta com a água é de grande importância para a economia de água e aumento da produtividade na agricultura, sobretudo em países tropicais, como o Brasil. Tendo em vista que a população mundial vem aumentando enormemente, sobretudo nos países mais pobres e vulneráveis do terceiro mundo, principalmente localizados nos trópicos, a produção de alimentos nestas regiões tem de ser aumentada, isto porque a produção agrícola local não é suficiente para manter essa população crescente, por serem áreas marginais para a agricultura, com deficiência de água e de nutrientes (Rockström & Falkenmark, 2000). Na zona tropical (América do Sul, África, Ásia), onde vivemos, a incidência de baixos índices de precipitação é muito maior que nas outras zonas, apesar de existirem regiões áridas também nestas outras. Por exemplo, segundo Singh (1995), mais de 60% do cultivo de feijão comum, em países da América Latina, África e Ásia sofrem redução na produção devido à falta d'água, pois o requerimento hídrico da planta, durante o seu ciclo, não é satisfeito.

A presente revisão sobre a relação da planta com a água pretende enfocar esta relação no ambiente tropical e inicia-se com uma análise termodinâmica da água nos sistemas biológicos, que é diferente daquela no sistema solo, onde não há variação de volume, e pretende contribuir com o estudo do comportamento do vegetal sob desidratação e seus possíveis mecanismos de adaptação à seca.

Capítulo I

Análise Termodinâmica do Sistema Aquoso Planta



1.1 • INTRODUÇÃO

A termodinâmica é a ciência que estuda as inter-relações entre a matéria e a energia. Estas relações são expressas com a ajuda de equações matemáticas simples e exatas, quando comparadas com as equações mais complexas usadas pela mecânica (quântica p. ex.). Estas equações são, segundo Thellier & Ripoll (1992):

$$H = U + PV;$$

$$F = U - TS; e$$

$$G = U + PV - TS = H - TS = F + PV,$$

onde se introduz uma nova terminologia, com as variáveis termodinâmicas tais como a Entalpia (H), a Energia Interna (U), a Energia Livre de Helmholtz (F), a Entropia (S) e a Energia Livre de Gibbs (G), que são deduzidas a partir de variáveis físicas mais conhecidas da maioria dos estudantes: a Pressão (P), o Volume (V) e a Temperatura (T).

A termodinâmica estuda o **sistema** (definido como a totalidade de um conjunto material, que pode conter sólidos, líquidos e gases) e suas relações com o **meio** (que é tudo o que circunda o sistema em estudo) (Anderson, 1996). Como exemplos, podemos ter sistemas com um contorno definido, como um simples copo com água, com um bordo real, o copo de vidro, interagindo com o meio que o circunda, o ar (com composição, temperatura e pressão definidas), a força da gravidade da terra e de outros corpos etc.; ou ainda sistemas como uma folha, uma árvore ou a floresta. Podemos ter também sistemas sem contorno visível, como a atmosfera, interagindo com a superfície da terra e a troposfera, ou a troposfera, interagindo com a estratosfera e a atmosfera.

Já a mecânica estuda corpos que possuem uma individualidade simples, avaliando as forças aplicadas à massa, que geram velocidade e aceleração, por exemplo, porém, a mecânica pode reunir estes corpos simples em sistemas mecânicos, como no caso do estudo das propriedades de gases, pelas leis mecânicas, aplicadas a um conjunto de moléculas individuais. Os resultados derivados destes estudos se aproximam do enfoque da termodinâmica. De uma forma geral, poderia se dizer que, enquanto a mecânica estuda as propriedades externas de um corpo, a termodinâmica estuda as mudanças internas deste sistema (Fermi, 1936).

Quando se estuda uma substância, sabe-se que todas as moléculas que a compõem contém energia nos seus átomos e ligações químicas, as quais podem ser trocadas com o meio através de movimento, reações químicas ou irradiação. Esta troca de energia resulta num rearranjo da estrutura química ou molecular da substância, e este rearranjo requer gasto de energia. Portanto, uma fração da variação de energia do processo é gasta no rearranjo e outra é gasta na troca com o meio. Esta energia gasta no rearranjo é chamada de entropia, e a energia trocada, que pode produzir trabalho, é chamada de energia livre. A energia livre é, por isso, dependente do número de moléculas existentes no sistema, que trocam energia. Variando o número de moléculas do sistema varia-se a capacidade de gerar trabalho no sistema e por isso Gibbs estabeleceu que a capacidade de gerar trabalho por molécula (por número de moles) é melhor para se lidar que a capacidade total do sistema em gerar trabalho, definindo esta relação, trabalho útil por mol, como sendo o potencial químico da substância (Thellier & Ripoll, 1992).

Uma outra característica da termodinâmica é que ela se limita a um momento ou estado. Spanner (1964) cita alguns exemplos, para ilustrar essa afirmação. O primeiro é o da água dentro de uma jarra sobre uma mesa, e a pressão de vapor acima da água, que, em um ponto preciso, tem um valor determinado. Todas as características do sistema e do meio dependem da história e da geografia do sistema, como há quanto tempo a água foi posta na jarra (atingindo um equilíbrio), a que altitude estamos fazendo o estudo, se existem barreiras ao movimento de gases etc. Contudo, uma certeza pode-se ter: quando o sistema atingir um equilíbrio interno, pode-se afirmar, com segurança, que a pressão de vapor num determinado ponto dentro da jarra é perfeitamente definida, e tem um valor único, que pode ser tabulado para referência futura. O segundo exemplo seria a adição de um extrato enzimático em uma mistura de substratos orgânicos dessa enzima. Após certo tempo, haverá um valor na proporção de substâncias existentes então, que dependerá da quantidade inicial das substâncias orgânicas, da atividade do extrato enzimático e do tempo que a reação progrediu. Porém, se o equilíbrio é atingido, todas as incertezas desaparecem, e as proporções das substâncias são definidas por uma relação simples, determinada pela constante de equilíbrio da reação (K). O terceiro exemplo é o de um recipiente hermético, onde foi criado vácuo, o que é um processo comum na indústria. Se ocorrer um pequeno vazamento, uma corrente de ar começará a penetrar no recipiente, em alta velocidade, devido à diferença entre a pressão atmosférica do ar externo e a do vácuo no recipiente. Neste caso, a localização e o

posicionamento das moléculas dos gases, que compõem o ar que penetra no recipiente, seria altamente errático e variável, devido à alta, e variável, energia cinética destas moléculas, com grande movimentação dentro do recipiente. Supondo que o vazamento seja reparado, e não haja mais entrada de ar, a energia cinética das moléculas dos gases dentro do recipiente se estabilizará, e a localização e estado energético das moléculas dos gases, no recipiente, será facilmente previsível.

Este último exemplo serve para mostrar a segunda principal característica da termodinâmica, que é a descrição, no sistema em estudo, de propriedades, as quais necessitam do equilíbrio para serem medidas. Nos dois primeiros exemplos, algumas destas propriedades são a pressão parcial de vapor d'água na jarra e a constante de equilíbrio na reação química. Mas o que não é tão óbvio é que outras propriedades, como a temperatura, a pressão dos gases e a entropia, só são definidas realmente quando o sistema está em equilíbrio. Isto pode ser ilustrado no terceiro exemplo, ao tentar-se medir a temperatura do ar bem próximo ao vazamento, pois esta será extremamente variável e dependente da posição e forma do termômetro (Spanner, 1964).

Portanto, estas propriedades termodinâmicas (no equilíbrio) são consideradas importantes ferramentas conceituais para a descrição de sistemas biológicos. Esta limitação do uso de propriedades, que só são definidas no equilíbrio, tem importantes conseqüências: a simplificação das equações matemáticas necessárias à descrição de um sistema biológico em estudo; e em segundo lugar, a descrição clássica termodinâmica de um sistema não avalia fluxos, pois isto significa que o sistema não está em equilíbrio, e sim em constante mudança. Estas avaliações de fluxos, por exemplo, podem ser feitas em outra área de estudo, a **termodinâmica fora do equilíbrio ou irreversível** (Pauling, 1970), que não será tratada aqui.

As avaliações termodinâmicas de um sistema somente no equilíbrio geram alguns problemas conceituais para os sistemas biológicos. Isto porque, se os resultados termodinâmicos só são válidos para sistemas em equilíbrio, seria correto aplicá-los a sistemas como uma célula viva, que se sabe não estar em equilíbrio? Para um exemplo concreto, uma raiz viva é um sistema que não está em equilíbrio, pois está absorvendo nutrientes, consumindo oxigênio, gerando potenciais eletroquímicos etc. Pode-se crer que as relações hídricas de uma célula possam ser governadas por equações termodinâmicas, como a do potencial da água:

$$-\Psi_a = -\Psi_m - \Psi_\pi + \Psi_p$$

Em sistemas biológicos, pressupõe-se que, no momento da avaliação do sistema, este esteja em equilíbrio estacionário (“steady-state”), também chamado de homeostase, antes e depois de um fluxo ocorrer. Este equilíbrio estacionário significa que as quantidades de matéria e energia que entram no sistema se equivalem às quantidades que saem deste. Por exemplo, pode-se prever o movimento da água do solo para a planta e da planta para a atmosfera, analisando-se o valor do potencial da água no solo ($-\Psi_{a,s}$), da planta ($-\Psi_{a,p}$) e da atmosfera ($-\Psi_{a,atm}$), mas não o fluxo que, como foi citado acima, não pode ser estudado pela termodinâmica. Outro exemplo é que pode-se estudar o provável movimento de íons do apoplasto para o simplasto, através do potencial eletroquímico transmembranar, mas não o seu fluxo. Evidentemente, outros processos biológicos, como o consumo de oxigênio, a síntese protéica ou a atividade de bombas iônicas, influenciarão estes processos. Mas a influência maior será na taxa de ocorrência (ou velocidade) do processo, que não é estudada pela termodinâmica, e que simplesmente pode prever a direção provável da ocorrência do fluxo. Enquanto a noção de taxas é estranha à termodinâmica clássica, a noção de direção das mudanças não, pois se pode avaliar as propriedades termodinâmicas antes e depois das mudanças. Por exemplo, pode-se questionar se uma mistura de amido e ácido fosfórico vai mudar espontaneamente para hexose-fosfato, ou se a direção da mudança espontânea ocorre na ordem inversa. Isto pode ser medido, inibindo-se a reação por um momento para analisar as suas propriedades (Stadler, 1989). Outro conceito importante da termodinâmica é que, enquanto os planetas e estrelas, numa visão macroscópica, têm sua velocidade de deslocamento no espaço sideral diminuída gradativamente, os elétrons no espaço atômico, numa visão microscópica, teriam movimentos perpétuos, incessantes, em torno do núcleo do átomo. Contudo, hoje se sabe que também os átomos são divisíveis em partículas menores, os quarks e glúons. Já se sabe também que os elétrons têm um movimento finito, quando ocorre a concentração de toda a matéria, inclusive os átomos, num buraco negro. Portanto, houve um início e haverá um fim do movimento dos elétrons. Porém, este movimento é infinitamente longo na escala de tempo e, para as nossas observações, ele pode ser considerado como infinito. Estes exemplos servem para caracterizar em que ordem de grandeza a termodinâmica deve ser usada, ou seja, em sistemas grandes o suficiente para serem vistos a olho nu ou em microscópios; e em temperaturas não muito próximas do zero absoluto, onde ocorrem os fenômenos de supercondutividade em hélio líquido, por exemplo, que alteram as propriedades termodinâmicas do sistema (Pauling, 1970).

A termodinâmica clássica tem como fundamento a impossibilidade do “moto-continuum”, e isso define a ordem de grandeza de suas observações como sendo macroscópica. Além disto, ela não lida com mecanismos que são vistos na mecânica, mas sim com a geração de potência (energia) química, osmótica, elétrica ou de outras formas, que por sua vez permitirão a ocorrência dos mecanismos. Portanto, a termodinâmica clássica permite prever a direção em que um sistema vai se modificar espontaneamente, quando liberado de suas barreiras; além disso, ela fornece relações, como a constante de equilíbrio de uma reação, ou o potencial osmótico de uma solução e sua pressão de vapor, ou ainda o potencial eletroquímico de uma membrana, que caracterizam o sistema em observação (Nobel, 1999). O estudo desta disciplina leva, portanto, a uma visão mais ampla do meio que nos circunda, e, portanto, do universo, transcendendo os seus mecanismos.

1.2 • PRIMEIRA LEI DA TERMODINÂMICA

O conceito de **trabalho** é familiar a todos, assim como a idéia do produto força vezes distância, como sendo uma medida de **trabalho**. Esta é uma função extremamente útil, e é importante se conscientizar disso, pois conceitos como **Entropia** ou **Energia Livre**, expressos adiante, são menos evidentes no dia-a-dia, que a idéia de trabalho. Por exemplo, se o sistema em estudo contém um corpo em movimento, o produto $1/2 mv^2$ (**m** sendo a massa do corpo e **v** a sua velocidade) representa o trabalho realizado, quando uma força é aplicada ao corpo. Portanto, há uma correlação entre uma forma de energia aplicada (a força) e o trabalho produzido. Isto leva ao princípio de que energia é necessária para ocorrer trabalho, o qual produzirá mudanças, de diferentes formas, naquele corpo (ou sistema), como movimento, deformação etc. Estas mudanças dão uma idéia de que “algo” está sendo armazenado, quando a mudança se dá em uma direção, ou sendo liberado, quando na direção oposta. “Algo” que, na ausência de atrito, por exemplo, nunca seria perdido. Por isto, basta chamar-se esse “algo” de **energia**, e reconhecer que ela existe em diferentes formas, e chega-se ao princípio da conservação da energia (Spanner, 1964).

Quando a força de fricção atua em sentido contrário ao movimento do corpo, há uma tendência de aumento da temperatura, causada pelo **calor** transmitido, que é uma outra forma de energia. O aumento da temperatura reflete o aumento da energia cinética das moléculas do corpo ou, como exemplos mais comuns, de um gás que é aquecido, ou da água que ferve e

evapora-se, quando posta no fogo. A água aquecida evapora, passando do estado líquido para o gasoso, devido ao aumento da energia das moléculas, causado pelo aquecimento, e que é percebido pelo aumento da temperatura. O mesmo ocorre com o gelo passando ao estado líquido, quando recebe calor. Nestes processos, as moléculas aquecidas por uma fonte externa ao sistema aumentam sua energia (de vibração, excitação, rotação etc.), e um fator específico percebido pelos átomos de água é que a aquisição de energia sob a forma de calor aumenta o caos, isto é a desorganização do sistema (aumentando a dispersão desses átomos, quando passam de um estado para outro, por exemplo), enquanto a aquisição na forma “mecânica” de trabalho não tem este efeito. Quando um gás simples é comprimido lentamente em contato com um banho termostático, o trabalho realizado pela compressão se converte exatamente na mesma quantidade de calor produzido pelo sistema (Fermi, 1936).

Por outro lado, quando uma mistura de gases reativos, como hidrogênio, nitrogênio e amônia, por exemplo, é comprimida, similarmente, o calor produzido excede o trabalho de compressão e percebe-se que a reação química é direcionada para um aumento da concentração de amônia, equivalente à diminuição da concentração dos outros dois componentes. A expansão destes gases para o estado inicial restaura as concentrações dos gases no começo do processo. Portanto, da mesma forma que a energia potencial pode ser associada com o movimento de um corpo, no princípio mecânico de conservação de energia, a energia química potencial pode ser associada à capacidade de reação dos gases, e é classificada como uma das categorias de energia, mantendo a primeira lei da termodinâmica. E, assim, quando uma energia química potencial é incluída no processo, o princípio ainda é mantido, pois a energia não pode ser criada nem destruída, só transformada, durante a compressão daquela mistura de gases (Stadler, 1989).

Assim sendo, as formas de energia que um sistema material possui podem ser divididas em dois tipos: aquelas em que a energia é mantida numa forma dinâmica, e aquelas que são estáticas (Libardi, 1995). A primeira forma é normalmente a energia cinética e a parte cinética da energia térmica, como a vibração molecular; já a segunda é a energia potencial, que está associada com a gravidade, a deformação elástica e a configuração química. Contudo, calor e trabalho não pertencem a esta classificação, pois a energia não é mantida nessas formas. O trabalho e o calor são conceitos que emergem, quando se considera como a energia é passada de um sistema material para outro (o sistema A passa energia, do tipo trabalho ou do tipo calor, para o sistema B). Por isso, trabalho e calor são melhor vistos como formas de

transmissão de energia. Outrossim, quando, por exemplo, um projétil atinge uma parede, o sistema “parede” absorve exatamente a mesma quantidade de energia que o projétil tinha em movimento, enquanto em processos químicos e de mudança de fase, como a evaporação da água, o aumento da energia térmica do sistema pode ser bastante inferior ao calor absorvido, pois, neste caso, uma forma “latente” ou química de energia é bloqueada, como uma energia potencial (Spanner, 1964).

Para deduzir-se a formulação matemática da primeira lei da termodinâmica, deve-se fazê-lo para um **sistema fechado** (que é um sistema onde não há troca de matéria com o meio e, portanto, a sua quantidade é fixa; no caso contrário, quando há troca de matéria entre o sistema e o meio, ele é chamado de **sistema aberto**), segundo Chagas (1999). Por exemplo, considerando-se 100 gramas de água em dois estados, 1 e 2, onde o sistema 1 está na temperatura de 20°C com 1atm de pressão, e o sistema 2 está a 100°C com também 1atm de pressão. Os sistemas podem se interconverter, sem variação de matéria, adicionando-se ou removendo-se diferentes formas de energia, como trabalho ou calor. Outra consideração a ser feita é que existem infinitas formas de trocas de energias (ou de caminhos) entre os sistemas 1 e 2. Por exemplo, aquecendo a água em um recipiente sob um bico de Bunsen (adição de calor), até atingir 100°C; outra seria sacudir esse recipiente violentamente até aquecer a água na temperatura desejada (trabalho mecânico), ou ainda mergulhar uma resistência elétrica dentro do recipiente com água (trabalho elétrico), ou mesmo usar parte de um método e parte de outro, fornecendo parte da energia como calor e parte como eletricidade. Neste último caso, na transição do sistema 1 para o 2, parte da energia é transmitida com calor (**Q**) e parte com trabalho (**W**), e juntos constituem a quantidade de energia total que variou entre os sistemas (**Q + W**) (Fermi, 1936). Portanto, a quantidade de energia (**Q + W**) é independente de tudo, exceto dos estados inicial e final, o que leva ao conceito de cada um dos sistemas possuir uma energia interna (**U**), e que a mudança entre os dois estados é dada por:

$$U_2 - U_1 = \Delta U = Q + W \quad (\text{eq. 1.1})$$

A primeira lei da termodinâmica, portanto, introduz uma outra função **U**, chamada de **energia interna** do sistema, que é considerada como uma variável de estado, pois ela é fixa e estabelecida quando o estado do sistema é específico e determinado. Da mesma forma, o volume também é uma propriedade do sistema, com a diferença que sua magnitude é desconhecida. Portanto, a energia interna de um sistema pode ser aumentada

de duas formas: aplicando um trabalho sobre o sistema (como comprimindo-o ou distendendo-o $[\pm P\Delta V]$ ou aplicando uma fricção), ou colocando-o em contato com outro corpo aquecido de forma que absorva calor (Fermi, 1936).

A energia interna do sistema pode ser claramente classificada como sendo uma **propriedade extensiva** do sistema, pois sua magnitude depende do tamanho do sistema (quantidade de matéria deste). Outros exemplos de propriedades extensivas são a massa, o volume, o número de moles, a carga elétrica, a área e o calor de um sistema, assim como, ainda a ser definida, a entropia. Ao contrário das propriedades extensivas, as **propriedades intensivas** do sistema não dependem do tamanho do sistema, como por exemplo, a temperatura, a pressão, a tensão superficial, o potencial elétrico e, ainda também a ser definido, o potencial químico de uma substância (Chagas, 1999).

Se dois sistemas são estudados juntos, a energia interna total é a soma da energia interna de cada um dos sistemas e, portanto, a energia interna de um sistema aberto (que tem variação da quantidade de matéria) pode ser aumentada pela adição da matéria.

Primeira lei da termodinâmica:

- A energia do universo é conservada.
- No sistema isolado (que é um sistema fechado, onde, além de não haver entrada de matéria, não há entrada ou saída de energia), a soma de todas as formas de energia, incluindo mecânica, química ou térmica, permanece constante.
- Em qualquer transformação de um sistema fechado, o aumento de energia interna do sistema é igual ao trabalho aplicado sobre o sistema somado ao calor absorvido por ele.

Deve-se ressaltar que W e Q não são propriedades do sistema, como U , pois pode-se ter a mesma U com diferentes valores de W e de Q . Enquanto o coeficiente $\partial U / \partial T$ define propriedades de um sistema de matéria (a **capacidade térmica**), $\partial Q / \partial T$ não tem este significado, pois Q pode ter qualquer valor arbitrário (Spanner, 1964).

1.3 • SEGUNDA LEI DA TERMODINÂMICA

Após a dedução da primeira lei da termodinâmica, pode-se discutir o que é uma das mais famosas de todas as leis da natureza. A primeira lei foi deduzida a partir do fato que energia é um dos constituintes da natureza, que pode mudar de forma, entre duas condições da matéria, sem contudo mudar em quantidade. **A energia é algo que não pode ser criado nem destruído,**

ao menos dentro do nosso conhecimento, e é sempre fixa na sua quantidade total (Pauling, 1970).

A segunda lei da termodinâmica leva em conta um outro aspecto dos eventos naturais. Ela estipula, como aparenta ser reconhecido pelo mais profundo nível do inconsciente humano, que existe uma irrevogabilidade dos fatos no universo, e uma ação, ou mesmo um pensamento, uma vez realizado, não pode voltar atrás. É possível modificar ou cancelar alguns de seus efeitos, mas o *status quo* existente antes do seu efeito não pode ser recuperado (Anderson, 1996).

Qualquer acontecimento ao nível de matéria e de energia, como dissolver um sal em uma solução, a combustão de uma substância ou a evaporação da água, tem sua característica de irrevogabilidade. Isto não quer dizer que não seja possível voltar-se à situação original, evaporando a solução para recuperar o sal ou condensando a água evaporada; porém, isto tem um custo. A dissolução do sal ou a evaporação da água são processos espontâneos, que ocorrem numa direção e, a menos que haja alguma interferência, ocorrerão sempre naquele sentido; todo processo espontâneo deixa sua marca no mundo físico. Portanto, todos os acontecimentos, na natureza física, envolvem um certo grau de irreversibilidade. Estes processos ocorrem espontaneamente numa direção mas não em outra e, depois de ocorrido, algo foi perdido na soma total de coisas, que não é recuperável, e isto é o conceito da irreversibilidade termodinâmica. Outros exemplos seriam: a água que desce uma cachoeira pode ser transportada de volta ao alto da cachoeira, uma pedra que rola um morro pode ser transportada para o alto do morro, ou um balão de ar quente subindo na atmosfera pode ser transportado para baixo, porém através de um novo processo que necessita de energia e de trabalho. Todos estes processos espontâneos liberam energia, como numa chama, que é um exemplo bem evidente, ou em processos de difusão de moléculas, em gases ou em soluções, onde é menos evidente a liberação de energia, pois esta é pequena. Mas em todos estes casos é possível obter-se trabalho, por menor que seja. Por exemplo, o contato entre dois compartimentos, um com uma solução aquosa de sais e outro com água, ambos separados por uma membrana semi-permeável, pode produzir trabalho, com a passagem de água através da membrana para o compartimento onde estão os sais, como ocorre numa célula viva. Não existe limite inferior para a capacidade de gerar trabalho num sistema; o que existe é o limite superior, máximo, de gerar trabalho (Spanner, 1964).

Segunda lei da termodinâmica:

- A entropia do universo nunca diminui.
- Todo processo espontâneo na natureza pode produzir trabalho e para reverter esse processo é necessário aplicar trabalho no sistema.

Por exemplo, dois processos comuns na natureza: a evaporação e a condensação da água. Nas circunstâncias favoráveis para que um dos processos ocorra espontaneamente, o outro precisa da aplicação de trabalho para acontecer. O vapor d'água do ar condensa-se na superfície do solo durante a madrugada, com o abaixamento da energia térmica do ar, percebida pela temperatura ambiente; e, durante o dia, com o aquecimento do ar pelos raios solares, e aumento da sua temperatura, a água evapora-se do solo para o ar. Para inverter os processos, em cada uma das duas situações tem de haver gasto de energia.

Outro tópico importante neste assunto é que a energia não pode ser transformada em trabalho sem que haja alguma perda que não é recuperável como trabalho, como, por exemplo, sob a forma de calor. O atrito em máquinas vem sendo combatido há muito tempo, para evitar o desperdício de trabalho, sem que o homem tenha conseguido produzir o *moto-continuum*. O calor gerado pelo atrito não pode ser recuperado sob a forma de trabalho, o que causa perdas na quantidade de trabalho que poderia ser produzido pelo sistema. Por isto, todo processo que gera trabalho perde parte do seu potencial de geração de trabalho sob a forma de calor, o que é irreversível. Porém quanto menos calor for produzido no processo, maior a capacidade de gerar trabalho. O calor pode ser convertido em trabalho, mas uma quantidade deste calor é usada para “pagar” a conversão, o que vai diminuindo gradualmente a capacidade do sistema produzir trabalho. Parte da energia do sistema é perdida com o elemento da irreversibilidade, que não produz trabalho (Thellier & Ripoll, 1992).

Quando um sistema sofre uma transformação de um estado 1 para um estado 2, ele sofreu uma mudança. Poderia haver uma forma de medir-se esta mudança? E esta medida poderia ser usada para comparar diferentes tipos de mudanças em sistemas distintos? Por exemplo, uma mudança num sistema onde está ocorrendo difusão poderia ser comparada com um sistema sofrendo uma reação química ou uma expansão de volume? Este é um exemplo comum na fisiologia, pois a entrada de íons na célula através da plasmalema é acoplada à atividade de uma ATP-ase transmembranar, que gera, através da extrusão de prótons, o potencial eletroquímico necessário à

passagem do íon para o citoplasma. A principal fonte de energia para os processos biológicos é o sol e, através da fotossíntese, esta energia radiante é transformada e estocada nas ligações químicas da molécula de ATP, que é a moeda energética dos sistemas biológicos. Visto que existe um limite máximo de capacidade de produzir trabalho no sistema, esta medida poderia ser usada para comparar diferentes tipos de mudanças (elétrica, química, fase, volume etc.). Uma mudança metabólica pode ser ligada a um processo de transporte membranar, em que os dois processos são equivalentes nesta medida de mudança. Por exemplo, o número de moles de ATP consumidos para transportar um mol de um determinado íon através da plasmalema (Nobel, 1999).

Esta medida é a variação de **energia livre**, que será discutida adiante, mas que **é dependente de temperatura constante** para ser estabelecida, o que não satisfaz a necessidade de uma medida para a perda da capacidade de gerar trabalho, quando ocorre variação de temperatura. Portanto, a qualidade da energia térmica é inferior à da energia de trabalho, pois um sistema que produz trabalho pode transmitir energia para qualquer outro sistema, enquanto um sistema que produz energia térmica só pode transmiti-la para outro sistema que tenha uma temperatura inferior. Por isso o calor, energia térmica, sob altas temperaturas é menos restritivo, em seu uso, do que o calor sob baixas temperaturas. Portanto, o calor tem um valor que é relacionado à temperatura do sistema, e a baixa temperatura torna o calor menos utilizável. O calor, em um processo reversível e espontâneo, pode produzir o máximo de trabalho; contudo, quando trabalho é convertido em calor, parte da energia é perdida nesta medida de irreversibilidade, como o aquecimento de um motor em funcionamento. Se dividirmos o calor produzido pela T do sistema (Q / T), pois a perda de calor é dependente da temperatura do sistema, como visto anteriormente, teremos uma medida desta irreversibilidade da natureza. Esta medida é chamada de **entropia**, e é uma medida da mudança sofrida pelo sistema, sendo uma propriedade extensiva, pois é dependente da quantidade de matéria do sistema (Fermi, 1936).

Supondo-se um gás num estado 1, com P_1 , V_1 e T_1 , se transformando em um estado 2, com P_2 , V_2 e T_2 , a sua conversão para o estado 2 pode se dar de infinitas formas, passando por diferentes caminhos e estados intermediários. Porém, a variação de energia entre estes dois estados, independe do caminho percorrido, e pode ser descrita, segundo a primeira lei da termodinâmica, como sendo:

$$U_2 - U_1 = \Delta U = Q + W, \text{ ou } Q = \Delta U - W \quad (\text{eq. 1.2})$$

Visto que $W = P \partial V$, mas o trabalho é realizado sobre o sistema e portanto $W = -P \partial V$, e se a temperatura entre os dois estados variou em ∂T , o aumento em energia interna pode ser dado por $C_v \partial T$, onde C_v é o **calor específico** do gás, a volume constante, numa mudança infinitesimal do sistema (Chagas, 1999). Segundo Pauling (1970), o calor específico de uma substância é a quantidade de calor necessária para aumentar em um grau ($^{\circ}\text{C}$) a unidade de matéria (1 mol ou 1 g), sem mudança de fase. Portanto, a variação de calor poderá ser quantificada por:

$$\partial Q = C_v \partial T + P \partial V \quad (\text{eq. 1.3})$$

o que estipula que o calor fornecido ao sistema deve ser igual à soma do aumento de energia interna do gás e do trabalho realizado. Se dividirmos ambos os lados da equação por T , ter-se-á:

$$\partial Q / T = C_v \partial T / T + P \partial V / T \quad (\text{eq. 1.4})$$

como $PV = RT$ (quando não há variação de n , como no caso acima com o gás), ou $P / T = R / V$, substituindo-se na equação:

$$\partial Q / T = C_v / T \partial T + R / V \partial V \quad (\text{eq. 1.5})$$

ao integrar-se as variações de fase do estado 1 ao estado 2, ter-se-á:

$$\int \partial Q / T = \int C_v / T \partial T + \int R / V \partial V \quad (\text{eq. 1.6})$$

e esta quantidade $\int \partial Q / T = \Delta S$ é a medida de entropia, que é medida da irreversibilidade do processo, da mudança, ou do grau de desorganização deste (Nobel, 1999). Da mesma forma, para a energia interna do sistema U somente variações na entropia são definidas e não valores absolutos, assim como, para as outras variáveis termodinâmicas, a entropia de um sistema é avaliada no equilíbrio. Com este novo conceito e variável, a **segunda lei da termodinâmica** pode ser expressa de diversas formas:

- O calor não vai fluir por si mesmo de um corpo frio para um corpo quente.
- Todo processo irreversível perde uma quantidade de potencial de trabalho, que poderia ser obtida caso fosse um processo reversível.
- A entropia do Universo aumenta continuamente.

O princípio de aumento contínuo da entropia é um dos mais genéricos da termodinâmica, e se aplica a todos os corpos físicos, incluindo o próprio universo, o qual pode ser considerado como sendo um sistema fechado (Fermi, 1936). Apesar de ser aplicável em todos os processos, a entropia não é um parâmetro conveniente para a fisiologia, por não ter um cálculo simples. Uma outra variável da termodinâmica do sistema deve, portanto, ser usada.

1.4 • ENTROPIA E ENERGIA LIVRE

Supondo-se um sistema fechado, é claro, propenso a uma mudança espontânea, mas que foi momentaneamente bloqueado por uma barreira física ou química, como uma colher de açúcar sobre um copo d'água ou um anticatalítico em uma reação enzimática. Caso a barreira seja retirada, e o açúcar vertido no copo, a mudança espontânea se inicia: a solubilização do açúcar dentro d'água. O sistema sofreu uma transformação, porém sem troca de energia ($U_2 = U_1$, ou $\Delta U = 0$). Se esse experimento for repetido de forma a ser acoplado a um processo para gerar trabalho, como por exemplo, a dissolução do açúcar em um cilindro com um pistão semi-permeável, colocado acima do fundo do cilindro. Ao passar pelo pistão semi-permeável, para a solução abaixo deste haverá um aumento do volume abaixo do pistão induzindo um deslocamento do pistão. De onde virá a energia para promover este trabalho, pois $\Delta U = 0$? A única resposta é que o sistema retira energia térmica do meio, produzindo trabalho com esta energia; com isso, haverá aumento da entropia do sistema. Voltando ao primeiro caso, sem o pistão, que tem o mesmo estado final, pode-se concluir que também houve aumento da entropia neste primeiro caso e, portanto, em qualquer processo espontâneo, num sistema isolado, há um aumento da entropia (Nobel, 1999). Isto ocorre num sistema isolado, onde $\Delta U = 0$ e $\Delta V = 0$; quando há variação destes parâmetros, e troca de trabalho com o meio, pode haver diminuição da entropia do sistema, mas haverá aumento no meio externo, na vizinhança, e a entropia do universo vai aumentar.

Por exemplo, numa reação enzimática celular, na qual não haja variação da temperatura do sistema, para a fisiologia o que interessa são as quantidades das substâncias nos dois lados da equação da reação, em função de alguma propriedade que possa indicar o sentido desta. O conhecimento da entropia das substâncias em si não indica o sentido da reação, pois pode haver aumento ou diminuição desta, em função da sua relação com outras reações acopladas (no meio exterior ao sistema), por exemplo.

Quando a reação ocorrer dentro de uma bomba calorimétrica, que tem suas paredes condutoras de calor, pode-se manter a temperatura interna constante, com o auxílio de um banho termostático; além disto, suas paredes são rígidas, portanto não havendo variação de volume, e por isso também não há trabalho produzido. Como resultado da reação, calor será produzido, o que pode ser facilmente medido, sendo equivalente a $-\Delta U$ da reação (o sinal é negativo pois houve liberação de calor). Já que a variação de entropia foi

definida como $\Delta S = Q / T$ e, conseqüentemente, $Q = T \Delta S$; e houve uma variação da energia interna $-\Delta U$, pode-se concluir que o trabalho máximo que pode ser obtido na bomba calorimétrica é dado, segundo Stadler (1989), por:

$$W_{\text{máx}} = -\Delta U + T \Delta S \quad (\text{eq. 1.7})$$

Este $W_{\text{máx}}$ do sistema em estudo é uma nova função, que foi chamada de F. Outra consideração a ser feita é que, para um processo espontâneo, o sinal da quantidade $(-\Delta U + T \Delta S)$ deve ser positivo, $+\Delta U - T \Delta S = \Delta F$ (F_2 deve ser menor que F_1 , numa mudança do estado 1 para o 2). Portanto, se a reação tiver um valor $-\Delta F$, ela não é espontânea. Este é o conceito da energia livre de um sistema (Spanner, 1964).

Energia Livre de Helmholtz e de Gibbs

O termo “Energia Livre” deixa o fisiologista mais à vontade, pois é um conceito comum em suas discussões e certamente muito mais familiar do que o conceito de entropia.

Na dedução feita acima ($+\Delta U - T \Delta S = \Delta F$, para uma reação espontânea, pois $F_2 < F_1$), ΔF representa o **trabalho máximo** que pode ser obtido do sistema, **quando não há variação de volume no sistema**, como no sistema solo, por exemplo, e esta quantidade é chamada de **energia livre de Helmholtz** (Libardi, 1995).

Contudo, considerando uma reação bioquímica ou biofísica numa célula, sabe-se que esta ocorre num sistema que primeiro mantém a temperatura constante, sem mudanças substanciais. Caso contrário, o tecido esquentaria, podendo entrar em colapso. Isto é a termoestabilidade de um tecido. Em segundo lugar, o sistema mantém a pressão imutável, normalmente sem grandes variações, com valores próximos da pressão atmosférica. Pode haver variação na pressão de turgescência, causada pela entrada de material na célula, mas levando-se em conta todo o simplasto e apoplasto do tecido, a pressão do tecido se mantém relativamente constante, pois o que entrou no simplasto saiu do apoplasto. Esta constância da pressão do sistema adiciona um novo elemento ao balanço energético, pois, quando um processo espontâneo ocorre na célula, parte da energia livre do sistema, que decresce, é necessariamente absorvida como trabalho, **na forma de variação do volume à pressão constante**. Neste caso, que ocorre em sistemas biológicos, deve-se adicionar mais um termo à equação da energia livre, referente ao trabalho gerado pela variação de volume, tendo-se então, segundo Nobel (1999):

$$+\Delta U - T \Delta S + P \Delta V = \Delta G \quad (\text{eq. 1.8})$$

ΔG representa a chamada **energia livre de Gibbs**, pois, ao contrário da energia livre de Helmholtz, é usada em sistemas onde ocorre variação de volume, como é o caso dos sistemas biológicos. Por isto, a discussão, em termos de variações de energia, em sistemas biológicos, usa o conceito de energia livre de Gibbs, que representa o **trabalho útil** para o sistema (Anderson, 1996).

Portanto, em estudos nos sistemas biológicos, com variações de volume, o trabalho útil do sistema é obtido pelo cálculo da energia livre de Gibbs, enquanto em sistemas onde não há variação do volume, como no solo, faz-se uso da energia livre de Helmholtz.

Por exemplo, se um sistema fechado é considerado, então existe uma quantidade fixa de matéria nele. Se houver uma mudança espontânea de um estado 1 para um estado 2, a transformação pode gerar trabalho, e se ela for reversível, o trabalho será máximo; e, como foi dito para ΔU , o $W_{\text{máx}}$ (útil) depende somente dos estados 1 e 2, e não do caminho seguido na transformação. Este trabalho pode ser estocado (quando se levanta uma pedra a uma certa altura, ou na síntese de ATP) e, subseqüentemente, pode ser usado (ao largar a pedra ou na hidrólise do ATP). Nos dois sentidos das transformações, em condições isotérmicas, calor é retirado do meio para produzir trabalho em um sentido, e liberado do sistema ao realizar o trabalho, no outro sentido. Este máximo valor de trabalho, que pode ser obtido, é chamado de energia livre de Gibbs (Thellier & Ripoll, 1992).

Outro exemplo prático, comum na fisiologia, é o de um sistema consistindo de uma quantidade de uma solução de concentração c dentro de um cilindro, confinada sob um pistão semi-permeável, acima do qual existe água. Se a área do pistão é A , e o potencial osmótico da solução é dado por Ψ_{π} , uma força $A \Psi_{\pi}$ deve ser aplicada sobre o pistão para manter o sistema em equilíbrio (este é o princípio de um osmômetro). Se uma pequena quantidade de moles de água (∂n) atravessar a membrana e passar para a solução, o pistão subirá ∂x , e $A \partial x$ será o aumento do volume da solução. Este aumento de volume não é exatamente igual à diminuição do volume de água acima do pistão, cujo valor é $\bar{v}_a \partial n$, onde \bar{v}_a é o volume molar da água. Portanto, o trabalho realizado pelo pistão é: $\Psi_{\pi} = A \partial x = \Psi_{\pi} \bar{v}_a \partial n$. Como este é o trabalho útil realizado, ele representa $-\Delta G$. Se, no mesmo exemplo, a pressão da água for reduzida da pressão atmosférica para a sua pressão de vapor no equilíbrio p^0 , e em seguida uma quantidade de água (∂n) for levada a se evaporar, com o vapor de água se expandindo isotermicamente para uma nova pressão p , haverá trabalho realizado. Assumindo que o vapor de água se

comporte como um gás perfeito, o trabalho realizado durante esta expansão será: $RT \ln p^0 / p \partial n$, que também representa $-\Delta G$. As duas equações podem ser usadas para obter-se uma relação entre o potencial osmótico da solução e sua pressão de vapor (Slatyer, 1967):

$$\Psi_{\pi} \nabla_a \partial n = RT \ln p^0 / p \partial n \Rightarrow \Psi_{\pi} = RT / \nabla_a \ln p^0 / p \quad (\text{eq. 1.9})$$

Alguns pontos devem ser realçados, para não se cometer erros. O primeiro é que a **variação da energia livre de Gibbs só tem valor quando o processo estudado é isotérmico** (Nobel, 1999). Outro erro comum de fisiologistas é o comentário sobre “água livre” e “água ligada” a macromoléculas em sistemas celulares, ou os íons do “espaço livre” e os do “volume osmótico” (no vacúolo, por exemplo) da célula. Nos dois casos, o componente “livre” faz parte do sistema, o que é um erro, pois a variação da energia livre de Gibbs, segundo a lei da conservação de energia, não pode ser associada a uma “parte” do sistema. Portanto, a energia livre de Gibbs da água, e conseqüentemente o potencial da água, na célula é dada por toda a água celular (livre mais a ligada) e o potencial eletroquímico dos solutos celulares também é dado pelo total de solutos, do espaço livre e do volume osmótico (Slavik, 1974).

Portanto, a energia livre de um sistema não pode ser vista como uma parte da energia total de um sistema, no qual a outra parte da energia é de água ligada, por exemplo. A energia livre de Gibbs da água na célula leva em conta a água “livre” e a água “ligada” à estrutura ou a macromoléculas. A energia livre de Gibbs não pode ser vista simplesmente como uma forma de energia, mas sim como o potencial de produção de trabalho do sistema, sob certas condições, de que o sistema receba calor ou resfriamento quando necessário, para manter sua **temperatura constante**. Quando o sistema produz o máximo trabalho útil às custas de sua própria energia livre, como na célula viva, parte do trabalho usa sua própria energia interna (ΔU), e parte do trabalho usa energia térmica oriunda do meio ($T\Delta S$). Ao usar esta energia externa, o sistema “paga” com uma certa degradação causada pelo aumento de sua entropia. As duas frações de energia, que compreendem o trabalho realizado, podem ter variações nas suas proporções. Algumas vezes a primeira fração é zero (gases perfeitos) e, em raros casos (numa bomba calorimétrica), a segunda é zero, mas em geral as duas existem (Anderson, 1996).

Outra consideração importante é que, nos sistemas isotérmicos, nos quais os fisiologistas trabalham, o estado de equilíbrio é determinado por condições de mínima energia livre. Isto implica em uma diminuição da energia interna (U) e uma tendência de aumento da entropia (S). Assim, a diminuição da energia livre de Gibbs mede o máximo trabalho útil disponível,

sob condições de temperatura e pressão constantes. Considerando-se um sistema que muda de um estado (F_1, P, V_1) para um estado (F_2, P, V_2), onde F é a energia livre de Helmholtz, P a pressão no sistema, e V o volume deste, por definição, ter-se-á:

$$G_1 = F_1 + PV_1 \text{ e } G_2 = F_2 + PV_2, \text{ subtraindo-se tem-se:}$$

$$(G_1 - G_2) = (F_1 - F_2) - P (V_2 - V_1), \text{ e portanto:}$$

$$-\Delta G = \Delta F - P\Delta V$$

onde $-\Delta F$ é a energia máxima total que pode ser obtida do sistema, e $P\Delta V$ é o trabalho realizado pelo sistema expandindo-se do V_1 para o V_2 . Relembrando que:

$$\Delta F = \Delta U - T\Delta S \text{ e } \Delta G = \Delta F - P\Delta V \Rightarrow$$

$$-\Delta G = -\Delta U + T\Delta S - P\Delta V \quad (\text{eq. 1.10})$$

o decréscimo de energia livre de Gibbs corresponde ao máximo trabalho útil disponível, menos o trabalho realizado contra uma pressão externa.

Em sistemas biológicos, com variação de volume, a ação do meio ambiente geralmente mantém a temperatura e pressão constantes e, por isso, o uso da energia livre de Gibbs como variável é mais apropriado; além disto, a Termodinâmica mostra que esta energia necessariamente decresce nos processos espontâneos. Mas processos onde ocorre aumento da energia livre de Gibbs podem ocorrer nos sistemas biológicos acoplados a outros processos, onde haja um decréscimo maior de energia livre. Por exemplo, um processo endergônico (absorvendo energia) como a fixação biológica do nitrogênio atmosférico ocorre acoplado a um processo exergônico, como a oxidação de carboidratos na mitocôndria; ou a redução do N mineral a N orgânico, que ocorre nos cloroplastos, onde é gerado poder redutor (NADPH_2) e energia química (ATP) nos fotossistemas. Contanto que haja um decréscimo na energia livre de Gibbs total, a termodinâmica não se opõe (Thellier & Ripoll, 1999).

Outro exemplo importante é um processo físico, como a ascensão da água até o alto de uma árvore, onde conjectura-se a participação de mecanismos ativos, com gasto de energia, para a sua realização. O processo genericamente consiste na passagem da água na forma de uma solução diluída no solo e na planta para a forma de vapor na câmara subestomática da folha. Neste caso, há uma grande diferença entre o valor da energia livre de Gibbs e de Helmholtz, pois uma grande alteração de volume ocorre no processo de mudança de fase da água, na câmara subestomática da folha. Por isso, a energia livre de Helmholtz não é usada para os estudos sobre as relações dos vegetais com a água. Voltando ao caso em discussão, um pequeno volume de água (v_1)

do solo é retirado para a raiz e, sob a pressão ambiente no solo, que é essencialmente a pressão atmosférica (P), um trabalho Pv_1 é realizado; essa mesma quantidade de água é perdida e evaporada da folha para a atmosfera no topo da árvore (v_1), porém a pressão neste caso é a pressão parcial de vapor de água no ar (p), e não a pressão atmosférica total, e, portanto, um trabalho pv_1 é realizado. O resultado líquido do processo total é o trabalho $pv_1 - Pv_1$, o que causa uma diminuição da energia livre de Gibbs, que é aceito pela termodinâmica. Contudo, em relação à temperatura, é sabido que a temperatura do solo e da folha são bastante distintas, e assim o uso da energia livre de Gibbs para avaliar o processo não é possível, o que é freqüente em sistemas extensos como uma árvore. Pode-se analisar a energia livre de Gibbs na absorção de água pela raiz e na evaporação da água na câmara sub-estomática separadamente, e estes valores podem indicar a possibilidade do fenômeno, havendo $-\Delta G$, mas nunca pode-se prever a taxa desse processo (Spanner, 1964).

1.5 • A CONDIÇÃO DE EQUILÍBRIO

As duas funções de energia livre, a de Helmholtz (F) e a de Gibbs (G) foram definidas anteriormente: $F = U - TS$ e $G = U + PV - TS$.

Uma outra função útil para a termodinâmica é a **Entalpia (H)**, que seria o “conteúdo calórico”, que é definida como sendo: $H = U + PV$. Portanto, a equação para a energia livre de Gibbs pode ser reescrita: $G = H - TS$, onde se nota que G tem a mesma relação com H , como F tem com U . Ao se diferenciar as três equações (Chagas, 1999), obtém-se:

$$\partial F = \partial U - T\partial S - S\partial T; \partial G = \partial U + P\partial V + V\partial P - T\partial S - S\partial T; e$$

$$\partial H = \partial U + P\partial V + V\partial P \quad (\text{eq. 1.11})$$

sabendo-se que

$$\partial U = T\partial S - P\partial V \Rightarrow \quad (\text{eq. 1.12})$$

$$\partial F = -P\partial V - S\partial T \quad (\text{eq. 1.13})$$

$$\partial G = V\partial P - S\partial T \quad (\text{eq. 1.14})$$

$$\partial H = T\partial S + V\partial P \quad (\text{eq. 1.15})$$

analisando um sistema em equilíbrio, ter-se-á energia interna e volume constantes, o que significa que ∂U e ∂V são iguais a zero. Analisando as quatro equações acima, a única onde as duas variáveis ocorrem juntas é a primeira e, com estes valores iguais a zero, o ∂S também tem de ser zero. Por isto, nestes processos, nos quais a energia interna e o volume não são variáveis, a condição

de equilíbrio é de não haver variação de entropia. A mesma analogia pode ser feita para sistemas onde não haja variação de T e P , e a equação 1.14 mostra que não deve haver, neste caso, variação de energia livre de Gibbs (Nobel, 1999).

Portanto, todo sistema termodinâmico se move para o equilíbrio, e o critério para que haja equilíbrio é em direção à máxima entropia ou a mínima energia livre de Gibbs.

Isto implica que os processos espontâneos ocorrem nesse sentido, para o aumento da entropia (estado com máxima probabilidade de ocorrência) e/ou diminuição da energia livre, o que pode ser visto na natureza: a teoria do big-bang para a formação do universo, que se expande infinitamente; a rocha se desorganizando em partículas menores, que formarão os solos; a expansão de gases (maior entropia); o resfriamento gradativo da Terra; ou a água que desce a cachoeira (os dois últimos exemplos são de diminuição da energia livre de Gibbs). Os processos inversos só ocorrem com gasto de energia no sistema (Spanner, 1964).

Em sistemas termodinâmicos, lida-se com matéria e energia, e a análise da distribuição, ou dos arranjos de conteúdo, de energia e de matéria do sistema, deve considerar a tendência de aumento de entropia, para atingir-se o equilíbrio. Analisando-se o conteúdo de matéria somente, para simplificar, pode-se perceber que o aumento de volume significa um aumento de entropia, pois haverá maior distribuição dos componentes materiais do sistema. O processo de mistura de materiais, como no processo de osmose, também significa um aumento de entropia. Já no processo de imbebição ocorre uma diminuição da energia interna do sistema. Estes dois fenômenos são exemplos das variações nos dois termos da energia livre, U e TS (Thellier & Ripoll, 1992).

Por outro lado, a noção de entropia está associada ao grau de desordem de um sistema e, portanto, o equilíbrio é atingido com a máxima desordem do sistema. Na reação química de interconversão entre amido e glicose, ou de proteínas e aminoácidos, a tendência natural do processo é no sentido da produção de glicose e aminoácidos, não por ser um processo exergônico, mas sim pelo aumento de entropia (desorganização). A polimerização ou condensação de compostos em macromoléculas (síntese) implica em diminuição de entropia, pois aumenta a organização e, para isso, há necessidade de trabalho. Já o processo de hidrólise é um processo espontâneo (Anderson, 1996).

Estas considerações sobre energia livre e entropia do sistema podem ser aplicadas à célula ou mesmo aos seres vivos, que são sistemas altamente organizados, vide a arquitetura e organização estrutural de uma célula, que

representam arranjos de baixa entropia e, portanto, requerem gasto de energia. Por isto, o crescimento celular ou de um ser vivo requer energia metabólica, mas este processo, que retira energia do meio, causa a desorganização desse meio externo, e não pode ser mantido indefinidamente; a um dado momento, esta capacidade de desorganizar o meio, para manter a organização do sistema, a célula ou um ser vivo, deixa de funcionar, ocorrendo a morte e, conseqüentemente, desorganização do sistema (“do pó viemos e ao pó retornaremos”).

1.6 • O POTENCIAL QUÍMICO E OS SISTEMAS MEMBRANARES

Até agora a discussão sobre a noção de equilíbrio baseou-se em sistemas fechados, sem variação de matéria. Para a maioria das aplicações físicas da termodinâmica isso não é uma limitação, porém, para a fisiologia vegetal esse tipo de análise se torna problemático, pois os sistemas biológicos são, na maioria dos casos, sistemas abertos, onde ocorre entrada e saída de matéria. É o caso de uma organela celular, de uma célula ou mesmo de um órgão, nos quais existe um constante fluxo de água, minerais e substâncias orgânicas, que entram e saem desses sistemas, durante o seu crescimento e desenvolvimento. Do ponto de vista termodinâmico, o importante é que, associada à entrada de uma substância, haja a saída de uma outra, no sistema estudado, que estará, portanto, em equilíbrio estacionário (“steady state”), ou homeostase (Anderson, 1996).

Além disso, a fisiologia vegetal se interessa pelo metabolismo vegetal, isto é, a atividade bioquímica na célula, no órgão ou mesmo na planta inteira. Mesmo para a entrada de água na célula, hoje se sabe que não é um processo de simples difusão através da membrana celular, no antigo conceito de composição de membranas como um “mosaico-fluido”, em que a água se movimentaria de um lado para o outro da membrana sem grandes restrições; a entrada de água na célula pode se dar também por transporte através de canais estreitos, com um diâmetro pouco maior que o da molécula de água, que são chamados de aquaporinas. As aquaporinas controlam a difusão da água na raiz, principalmente na zona mais velha e suberizada, em função da pressão e das relações da água com outras moléculas, principalmente sob condições de baixa disponibilidade de água no solo (Steudle, 2001). Para o estudo desses processos, faz-se uso do conceito de potencial químico de uma substância, no caso da água, para a análise da probabilidade de ocorrer um fluxo dessa substância através de uma membrana, por exemplo (Slatyer, 1967).

Antes de conceituar-se o potencial químico de uma substância, é bom lembrar alguns conceitos matemáticos, usados para quantificar grandezas termodinâmicas, que são as derivadas parciais. As derivadas parciais são usadas com frequência na termodinâmica, pois, mesmo em casos simples como o de gases perfeitos, têm-se três variáveis: P , V e T . Por isso, é importante expressar as propriedades do sistema como derivadas parciais, o que permite analisá-lo de forma mais simples. Por exemplo, a derivada parcial $(\partial U / \partial T)_V$ mede a variação da energia interna com a temperatura, quando o volume é mantido constante. Na maioria dos sistemas estudados em fisiologia vegetal (quando não existem forças elétricas e magnéticas), o volume constante significa que não há trabalho sendo realizado sobre ou pelo sistema e, assim, a variação em energia interna só pode ser aumentada pela absorção de calor. Portanto, a derivada parcial, acima citada, mede a quantidade de calor que entra no sistema para aumentar a sua temperatura em uma determinada quantidade, o que é a capacidade calórica do sistema, que, se for dividida pela massa do sistema, representará o calor específico. Para isso, supõe-se o sistema fechado, sem variação de matéria, o que quer dizer que há um determinado número de moles de matéria, n , que poderia ser incluído na derivada parcial: $(\partial U / \partial T)_{v,n}$ (Stadler, 1989).

Porém em sistemas abertos, onde há entrada ou saída de matéria, surge a necessidade de utilizar-se uma classe específica de derivadas parciais, as quantidades parciais molares. Por exemplo, num sistema simples composto por um solvente e um soluto, se um certo volume v do soluto for adicionado à solução, o volume desta não será aumentado naquele exato valor v . O volume de um soluto seco, quando este é adicionado a uma solução, sofrerá mudanças, positivas ou negativas, quando o soluto interagir com a água. Por exemplo, a gelatina seca e sólida, quando misturada com água causará um aumento de volume acentuado, muito maior que o volume desta substância quando seca. Portanto, em soluções, o volume não é mantido enquanto a massa o é. Supondo o volume de uma solução como sendo V , contendo n_1 moles do soluto e n_2 moles do solvente, a derivada parcial $(\partial V / \partial n_1)_{n_2}$ representa a variação no sistema, subentendendo-se que o processo ocorre sem variação do número de moles do solvente. A adição de ∂n_1 moles do soluto vai causar uma variação de ∂V no volume do sistema, e a relação entre ∂V e ∂n_1 representa a variação de volume da solução com a adição de moles do soluto, caso esta adição não altere qualitativamente o processo. Logicamente, P e T devem ser mantidas constantes. Portanto, $(\partial V / \partial n_1)_{T,P,n_2}$ representa o volume parcial molar (\bar{v}_1) do soluto 1. Este volume é chamado de parcial pois pode haver outros solutos em uma solução (n_2, n_3, n_4 etc.) (Spanner, 1964).

O mesmo tipo de relação pode ser aplicado para a energia livre de Gibbs por mol de uma substância, em que esta quantidade parcial molar $[(\partial G / \partial n_1)_{T,P,n_2}]$ tem importantes propriedades, e recebe o nome de potencial químico (μ) da substância 1. Esta relação mede a diminuição de energia livre de Gibbs (G) do sistema, quando o componente 1 é retirado do sistema. Tendo em vista que na fisiologia vegetal, G é medida em condições de temperatura e pressão constantes, estes dois termos podem ser retirados da equação $[(\partial G / \partial n_1)_{n_2}]$. Se o sistema contiver diversos solutos, como é o caso de uma célula, por exemplo, pode-se estabelecer, para G e V (mas que também pode ser estendido a todas as outras variáveis, como S , U e H), que a energia livre de Gibbs do sistema é dada, segundo Nobel (1999), por: $G = n_1(\partial G / \partial n_1) + n_2(\partial G / \partial n_2) + n_3(\partial G / \partial n_3) + \dots$, e portanto:

$$G = n_1\mu_1 + n_2\mu_2 + n_3\mu_3 + \dots \quad (\text{eq. 1.16})$$

e o volume é dado por:

$$V = n_1(\partial V / \partial n_1) + n_2(\partial V / \partial n_2) + n_3(\partial V / \partial n_3) + \dots$$

e portanto:

$$V = n_1\bar{v}_1 + n_2\bar{v}_2 + n_3\bar{v}_3 + \dots \quad (\text{eq. 1.17})$$

agora supondo um sistema simples, consistindo de duas fases A e B, separadas por uma membrana semi-permeável, elástica, onde a fase A é composta por água pura e a fase B, envolvida pela membrana, contém água mais um soluto (como uma célula imersa em um copo de água). Que propriedade da água determina quanto e por que a água se move de A para B? Sabe-se, instintivamente, que a água vai se mover de A para B até atingir o equilíbrio de concentração. Um exemplo mais evidente é o de dois sistemas com energia térmica diferente: sabe-se que haverá transferência de calor de um para outro e a temperatura dos dois sistemas serve para quantificar isso. Na situação do movimento de água, o potencial químico da água (μ_a) em cada um dos sistemas pode ser uma boa opção, e deve-se definir esta variável, de forma a quantificar as unidades de matéria que passarão de um potencial químico para outro, que será equivalente à quantidade de trabalho realizado no sistema de duas fases, pela segunda lei da termodinâmica (Stadler, 1989). Este trabalho é, evidentemente, proporcional a quantidade de matéria que passa de uma fase para a outra (Kramer & Boyer, 1995). Esta dedução sugere que:

$$(\mu_a^A - \mu_a^B) \partial n = W_{\text{máx}} \quad (\text{eq. 1.18})$$

Esta definição de potencial químico é semelhante à do potencial elétrico (medido em volts), que pode ser visto num livro elementar de eletricidade. Contudo, a discussão simplesmente baseada na quantidade de

matéria que passa da fase A para a fase B não é realmente precisa, pois, no momento em que matéria é retirada da fase A, as variáveis físico-químicas desta fase, como volume, pressão e entropia, sofrerão mudanças. Pode-se imaginar este processo ocorrendo à temperatura constante, com variação ou de volume ou de pressão, por exemplo. Se o processo for reversível, sob temperatura e pressão constantes (somente o volume é variável), o trabalho máximo obtido será equivalente ao decréscimo de energia livre de Gibbs do sistema (Nobel, 1999), e portanto:

$$(\mu_a A - \mu_a B) \partial n = \partial n_a (\partial G_A / \partial n_a) - \partial n_a (\partial G_B / \partial n_a) \quad (\text{eq. 1.19})$$

onde as derivadas parciais são dadas sob temperatura e pressão constantes. Pode-se ter a definição genérica do potencial químico como sendo:

$$\mu_i = (\partial G / \partial n_i)_{T, P, n_j} \quad (\text{eq. 1.20})$$

ou, através de outras variáveis físico-químicas, como foi definido originalmente por Gibbs:

$$\mu_i = (\partial U / \partial n_i)_{S, V, n_j} \quad (\text{eq. 1.21})$$

ou ainda:

$$\mu_i = (\partial H / \partial n_i)_{S, P, n_j} \quad (\text{eq. 1.22})$$

O uso do potencial químico para definir o estado energético de um soluto ou de um solvente em um sistema implica que: um soluto vai se movimentar de uma fase mais concentrada, de maior potencial químico, para outra fase menos concentrada, de menor potencial químico; ou o solvente, a água por exemplo, se movimenta da fase menos concentrada em solutos (mas mais concentrada em solvente) para a mais concentrada em solutos (menos em água) e este movimento cessa quando os dois potenciais químicos se igualarem. Portanto, o equilíbrio supõe que os potenciais químicos dos solutos e do solvente, nas duas fases do sistema, sejam iguais:

$$\mu A = \mu B$$

Em química, supõe-se, para o equilíbrio, que a atividade química (a) dos solutos nas duas fases sejam iguais, em vez dos potenciais químicos, não havendo contradição na igualdade de potencial químico ou de atividade química para a condição de equilíbrio, pois a atividade de uma substância é simplesmente uma função exponencial de seu potencial químico (Stadler, 1989):

$$a_i = \exp(\mu_i - \mu_i^0 / RT), \text{ ou que } \mu_i - \mu_i^0 = RT \ln a_i \quad (\text{eq. 1.23})$$

onde μ_i^0 é uma constante determinada arbitrariamente, como uma referência, que será discutida a seguir. A vantagem do uso da atividade química é que esta variável se refere à concentração da substância (que é

multiplicada pelo seu coeficiente de atividade química), e esta relação se equivale àquela utilizada para a relação entre trabalho máximo e variação de energia livre de Gibbs, em gases em expansão ou diluições osmóticas, descritas anteriormente (Anderson, 1996).

O potencial químico deve ser descrito como um coeficiente diferencial, pois ocorre variação de matéria no sistema (∂n), devido ao movimento do soluto de uma fase para outra, por exemplo, introduzindo uma quantidade de energia livre (∂G), cuja magnitude absoluta é indefinida, pois está-se lidando com variações de G . Esta indefinição é repassada ao valor absoluto de μ , que deve também ter um valor zero, de referência, determinado arbitrariamente (μ^0). No caso da água, o potencial de referência foi definido como sendo o potencial químico da água pura e livre (Slavik, 1974). Portanto, quando o sistema não é composto por água pura e livre, o seu potencial químico é menor que zero, e $\mu_a - \mu_a^0$ tem um valor negativo. Um sistema composto por água pura e livre tem uma maior capacidade de gerar trabalho, movimento, por exemplo, que um sistema composto por solutos e água. Se tivermos uma membrana semi-permeável (que permite a passagem de água mas não dos solutos) entre estes dois sistemas, a água vai se movimentar do sistema onde está livre para o sistema onde existem solutos, pois a energia livre por mol de água é maior no sistema com água pura e livre (Dainty, 1976). Em segundo lugar, deve-se considerar que o potencial químico é, como a temperatura, a pressão e a concentração, uma propriedade intensiva, que não depende, portanto, da quantidade de matéria do sistema. As propriedades intensivas exprimem as qualidades do sistema enquanto as extensivas indicam as suas quantidades. Quando se atenta para as variações de μ e de G , subentende-se que o sistema está modificando-se qualitativamente, em vez de variar sua composição somente, sem variar outras propriedades qualitativas como a temperatura ou a pressão. Por exemplo, numa folha dentro de uma garrafa fechada, a água, neste sistema, estará em duas fases, como líquido na folha e como gás na folha e na atmosfera dentro da garrafa. Depois de atingir-se o equilíbrio dentro da garrafa, a água terá o mesmo potencial químico em qualquer local dentro da garrafa: no cloroplasto ou na mitocôndria celulares, na parede celular, na câmara subestomática, ou na atmosfera em volta da folha (Spanner, 1964).

Em terceiro lugar, deve-se ressaltar que o potencial químico é uma importante variável entre as quantidades parciais molares e, na realidade, representa a energia livre de Gibbs parcial molar. Portanto, num sistema com vários solutos: $G = \text{somatório de } n_i \mu_i$, como já visto anteriormente e, como

$\partial G = V\partial P - S\partial T$, tem-se $\partial G = V\partial P - S\partial T + n_i\partial\mu_i$, ou num sistema aberto onde adicionam-se solutos tem-se: $\partial G = V\partial P - S\partial T +$ somatório de $n_i\partial\mu_i$ (Nobel, 1999). O que significa que a adição de solutos (∂n) a uma solução causa um aumento de G em $n_i\partial\mu_i$. O mesmo raciocínio e dedução podem ser usados para as outras variáveis (como U ou H).

A determinação do gradiente de potencial químico entre a vizinhança e o sistema indica, por exemplo, a direção do movimento de uma substância, assim como a diferença de temperatura determina a transferência de calor, ou o gradiente de potencial elétrico determina a direção da corrente elétrica. É importante salientar-se que, se duas fases (A e B) estão em equilíbrio com outra fase (C) em relação ao movimento de uma espécie i , elas estarão, as fases A e B, em equilíbrio entre si; pois, se as fases A e B não estivessem em equilíbrio, e alguma quantidade de i passasse de uma para a outra, as duas fases sofreriam distúrbios, necessitando retirar ou ceder quantidades de i para a fase C, o que provocaria um movimento contínuo da substância i entre as 3 fases, e um inexistente “moto-continuum”. Outra ressalva é que a adição de um soluto causará um desequilíbrio momentâneo e, portanto, G não pode ser medida logo após esta adição do soluto, devendo-se aguardar o novo equilíbrio.

Portanto, como visto anteriormente, num sistema de duas fases separadas por uma membrana, o equilíbrio é atingido quando $\mu_a A = \mu_b B$. Assim, no citoplasma, repleto de complexas organelas e que está associado à parede celular e a outras células do tecido, a água no vacúolo estará em equilíbrio com o apoplasto somente se os processos metabólicos, envolvendo troca de energia, na região em estudo, não interferirem no movimento de água na célula (Thellier & Ripoll, 1992).

1.7 • O POTENCIAL QUÍMICO E A DESCRIÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO SISTEMA

As propriedades de soluções diluídas são de grande importância para a fisiologia vegetal e, principalmente, nas relações de plantas com a água. Isto é evidente devido ao fato da vida ter surgido na água e que as reações metabólicas ocorrem na água, sendo esta o principal constituinte celular. Na célula, normalmente a concentração dos seus constituintes, sem contar as proteínas, é baixa, excetuando-se a acumulação de açúcares no néctar, na seiva do floema, ou em órgãos de reserva como os colmos da cana-de-açúcar, ou a acumulação de sais em plantas halófitas (Spanner, 1964).

Para se entender os efeitos dos constituintes nas relações da célula com a água, deve-se primeiramente quantificar a sua composição. Isto pode ser feito em unidades de massa (gramas) ou número de moles por unidade de volume (100 mililitros ou 1 litro), o que seria uma composição em percentagem (% p/v) no primeiro caso, ou a molaridade, no segundo caso. Estas duas formas de quantificação dos solutos têm suas vantagens quando se usa uma análise volumétrica mas, teoricamente, esta análise é inconveniente, pois estas formas de quantificação de solutos não levam em conta e, conseqüentemente, não especificam, a quantidade do solvente, no caso a água, que é o que interessa para avaliar-se o seu movimento. Em química, o que interessa geralmente é a quantidade do soluto e, por isso, estas formas de quantificação são bastante usadas; mas, para o estudo do potencial químico da água, o que interessa é a quantidade do solvente água. Quando se prepara uma solução 1 Molar (1M), coloca-se o soluto em um recipiente (este soluto tem um determinado volume) e completa-se o volume até um litro; mas, dependendo do volume do soluto, colocar-se-á um maior ou menor volume de água, que não fica especificado. Seria necessário consultar uma tabela de densidades, para saber-se a densidade do soluto e calcular-se o volume deste, para subtrair esse valor de um litro e, assim, calcular-se o volume de água adicionado à solução. Além disto, o volume pode variar com a temperatura ou a pressão. Por isto, é preferível usar formas de quantificação que tenham por base a massa do solvente, que é o caso da molalidade (m), que é definida como sendo a massa do soluto em moles por quilo do solvente, a água. Neste caso, o volume final da solução será maior que um litro, em função do volume do soluto em questão. Em soluções diluídas, os valores de M e m são muito próximos e, para uma primeira aproximação, a molaridade pode ser empregada. Estas unidades de composição são consideradas propriedades intensivas, pois dependem do tamanho do sistema (Nobel, 1999).

A medida da concentração em termos de moles (m), e não em gramas, está relacionada à molécula do soluto e, em termodinâmica, avalia-se a energia por molécula que entra ou sai do sistema. Fenômenos como a pressão osmótica, a variação dos pontos de fusão e de congelamento, ou da pressão parcial de vapor, estão relacionados com o número de moléculas existentes no sistema. Uma outra forma de relacionar-se o número de moléculas de um sistema é através da fração molar de uma espécie (x_i), que é a relação entre o número de moles da espécie (n_i) em relação ao número de todas as outras moléculas do sistema (somatório n_j): $x_i = n_i / \text{somatório } n_j$. Esta unidade seria mais interessante para avaliação do potencial osmótico pois, por exemplo, com a adição de uma molécula ao sistema, mas com propriedades

mais próximas do solvente do que do soluto, esta adição seria comparável à adição do solvente. Neste caso, a fração molar seria uma unidade mais indicada que a molalidade, pois ela vai variar com a adição do soluto, enquanto a molalidade não. Contudo, a molalidade é mais facilmente mensurável, e deve-se lembrar que, em soluções diluídas, como nos sistemas biológicos, a vantagem da fração molar é muito pequena (Anderson, 1996).

Após estas conjecturas, o próximo passo é buscar uma relação entre o potencial químico e as variáveis do sistema, como molalidade, temperatura e pressão. Como visto anteriormente, na dedução da energia livre de Helmholtz e de Gibbs (item 1.4), quando um mol de um soluto com uma concentração c_A (no caso citado, a discussão foi feita sobre a pressão gerada pela expansão de um gás) passa para uma outra fase, de concentração mais baixa (c_B), o trabalho máximo, em condições isotérmicas, é dado por: $W_{\text{máx}} = RT \ln c_A / c_B$ (por mol). De acordo com a definição do potencial químico, o trabalho máximo que pode ser obtido entre duas fases de um sistema, separadas por uma membrana, é igual à diferença entre os potenciais químicos das duas fases (Thellier & Ripoll, 1992), e portanto:

$$W_{\text{máx}} = \mu_A - \mu_B = RT \ln c_A / c_B \quad (\text{eq. 1.24})$$

A princípio, esta fórmula, onde c pode ser substituída por \mathbf{m} ou por \mathbf{x} , só é válida quando ocorre movimento de um único soluto entre as fases, sem transferência do solvente (água) entre as fases. Para soluções diluídas, como é o caso dos sistemas biológicos como a célula, mesmo que haja movimento de outros solutos ou do solvente água, a formulação acima é relativamente precisa; porém, para soluções concentradas, a fórmula pode ser bastante inexata. Além desta incorreção, deve-se ressaltar que, como discutido anteriormente, o uso da fração molar (x) é mais preciso que o da molalidade (m), e esta mais precisa que o da molaridade (M). O mais correto cálculo do trabalho máximo de um sistema seria dado por:

$$W_{\text{máx}} = \mu_A - \mu_B = RT \ln a_i m_i A / a_i m_i B$$

onde \mathbf{a} é a atividade da substância \mathbf{i} e \mathbf{m} a sua molalidade (Nobel, 1999).

Considerando-se uma das fases como sendo um padrão, onde x_i seja igual a 1, o potencial químico correspondente assume um valor padrão de referência, que será constante. Contudo, o uso de \mathbf{m} em vez de \mathbf{x} é mais conveniente, porém deve-se estipular um estado padrão diferente, pois $x=1$ significa uma substância pura, enquanto $m=1$ significa aproximadamente uma solução molar. Portanto, o potencial químico padrão seria o valor para uma solução molar, salientando-se que este valor de potencial químico se mantém constante somente quando só ocorrem variações de composição do sistema,

sem mudanças de temperatura e principalmente de pressão. Caso haja variação da pressão, mais um componente ($P \nabla_i$) deve ser incorporado a fórmula do trabalho máximo, que pode ser obtido no sistema, em relação ao seu estado padrão. Portanto, a definição da capacidade máxima de produzir trabalho no sistema, composto por uma solução da substância i , será dada por:

$$W_{\text{máx}} = \mu_r A = \mu_i^0 + RT \ln a_i m_r A + P \nabla_i \quad (\text{eq. 1.25})$$

Na verdade, deveriam ser incluído o termo " $m_i g h$ ", que é a contribuição gravitacional, e o termo " $z_i F E$ ", que é a contribuição elétrica (importante para estudos com eletrólitos), segundo Nobel (1999).

1.8 • A TERMODINÂMICA E A RELAÇÃO DE TECIDOS VEGETAIS COM A ÁGUA

Este é um assunto de grande interesse para a fisiologia vegetal, pois a água na célula, como já foi comentado, é fundamental para as reações bioquímicas e, conseqüentemente, para a atividade metabólica celular. Portanto, o estudo sobre os mecanismos que controlam a entrada e saída da água na célula permite uma melhor compreensão do comportamento celular.

Desde o reconhecimento da importância das forças osmóticas para o movimento de água em tecidos, na primeira metade do século XIX, grandes avanços foram feitos, como a determinação da participação da pressão de turgescência no controle do movimento da água, que é mantida pelas propriedades elásticas da parede celular, avanços feitos no começo deste século (Pfeffer, 1912), assim como as suas implicações, pelo ajuste destas propriedades elásticas e/ou do potencial osmótico, em processos de adaptação ambiental da célula (Dainty, 1976; Bolaños & Edmeades, 1991; Newman, 1995), ou ainda sobre o transporte "passivo" da água pelas membranas celulares, via canais, as aquaporinas (Maurel, 1997). Este transporte é considerado "passivo", pois o movimento de água é determinado principalmente pelos gradientes hidrostático (ΔP) e osmótico ($\Delta \pi$); porém, foi gasta energia metabólica para gerar este gradiente.

Como foi visto anteriormente, o critério para estabelecimento do equilíbrio da água num sistema é a igualdade do potencial químico da água nas diferentes fases do sistema:

$$\mu_{\text{apoplasto}} = \mu_{\text{parede celular}} = \mu_{\text{citoplasma}} = \mu_{\text{vacúolo}}$$

Para que haja movimento de água entre duas fases, $\mu_a A - \mu_a B > 0$ e, neste caso, o trabalho máximo obtido no sistema seria dado por: $W_{\text{máx}} = \mu_a A - \mu_a B$

= $RT \ln a_a m_a A / a_a m_a B$. Porém, esta fórmula foi deduzida para solutos e, no caso da água, não há significado em falar-se da molalidade da água. Por isto, deve-se reformular o trabalho máximo obtido num sistema aquoso. Pode-se fazer isto através do uso do componente osmótico existente entre as fases: πA , na fase A e πB na fase B, sendo que neste caso haverá transferência de ∂n_a moles de água, envolvendo uma variação de volume (\bar{v}_a), e portanto o trabalho realizado na fase A é igual a $\pi A \bar{v}_a \partial n_a$, e o trabalho aplicado na fase B é igual a $\pi B \bar{v}_a \partial n_a$ (Slavik, 1974). Assim, o trabalho máximo obtido no sistema é igual a:

$$W_{\text{máx}} = \mu_a A - \mu_a B = - (\pi A \bar{v}_a \partial n_a - \pi B \bar{v}_a \partial n_a) \quad (\text{eq. 1.26})$$

O sinal negativo foi introduzido pois, quanto maior for a pressão osmótica de uma fase, menor será o potencial químico da água nesta fase e vice-versa, ao contrário do potencial químico do soluto, gerador daquele potencial osmótico, que é proporcional ao potencial osmótico da solução (vide a discussão sobre o uso da molaridade para descrição da composição de um sistema em termos do soluto ou do solvente água). O potencial químico da água num sistema varia em sentido oposto ao do potencial químico do soluto que compõe o sistema. Pode-se dizer que, numa solução de um único soluto, se o sistema estiver em equilíbrio, $n_a \partial \mu_a - n_i \partial \mu_i = 0$ (sob T e P constantes). Portanto, na fórmula deduzida no tópico anterior, o termo $RT \ln a_a m_a A$, pode ser substituído por $\pi A \bar{v}_a$ (onde o termo ∂n_a foi eliminado pois não há variação de número de moles de água no sistema), e os termos $z_j FE$ (potencial elétrico, que afeta o potencial químico de partículas carregadas) e $m_j gh$ (potencial gravitacional, que afeta o potencial químico devido à força da gravidade principalmente no solo e em árvores) podem ser acrescentados, segundo Nobel (1999), e tem-se que:

$$W_{\text{máx}} = \mu_a A = \mu_a^0 - \pi A \bar{v}_a + P \bar{v}_a + z_j FE + m_j gh \quad (\text{eq. 1.27})$$

onde z_j é a carga da partícula, F é a constante de Faraday, E é a intensidade do campo elétrico, m_j é a massa da partícula, g é a força da gravidade e h é a altura.

Contudo, para a maioria dos vegetais, os dois últimos termos não influenciam o potencial químico da água, e a equação, segundo Kramer & Boyer (1995), pode ser simplificada para:

$$W_{\text{máx}} = \mu_a A = \mu_a^0 - \pi A \bar{v}_a + P \bar{v}_a \quad (\text{eq. 1.28})$$

Pode-se perceber por esta equação 1.28 que o potencial químico padrão da água (μ_a^0) é aquele da água pura ($\pi A = 0$) e livre, isto é, quando

não há pressão sendo aplicada sobre ela e, por isso, tem a maior capacidade de gerar trabalho; em qualquer outro sistema onde haja a água, haverá forças atuando sobre a água (osmótica ou de pressão) e o potencial químico será menor. A água vai sempre se movimentar de uma fase onde esteja mais pura e livre para outra onde haja maior quantidade de solutos (Slavik, 1974).

Passando o termo μ_a^0 para o outro lado da equação, e dividindo-se ambos os lados por \bar{v}_a , ter-se-á:

$$(\mu_a - \mu_a^0) / \bar{v}_a = P - \pi A \quad (\text{eq. 1.29})$$

que é a formulação do potencial da água (Ψ_a) em vegetais, que também já foi chamado de potencial de sucção, potencial hídrico ou de déficit de pressão de difusão, onde o termo P corresponde à pressão de turgescência, e o termo π corresponde ao potencial osmótico (Dainty, 1976).

No sistema solo, outro componente do potencial da água deve ser incluído, o potencial matricial (τ), que é devido à adsorção de água nos colóides do solo (a matriz), nas argilas e na matéria orgânica, em uma interface água/ar (no solo abaixo da capacidade de campo), pois no solo o conteúdo de água pode ser baixo e, conseqüentemente, a interface água/ar pode ser importante. A princípio, o componente matricial também existe nos tecidos vegetais, e é originado na parede celular e macromoléculas, mas não tem grande importância, e se considera que está embutido no componente osmótico, pois o conteúdo de água nos tecidos é alto (acima de 75% de peso, na maioria dos vegetais), não existindo esta interface água/ar (somente na câmara subestomática, onde a água se evapora, passando para a atmosfera, na fase gasosa), segundo Kramer & Boyer (1995).

O valor de P é positivo, pois, na célula, por exemplo, é uma força exercida pela parede celular expulsando a água da célula (um bom exemplo de comparação é um balão de borracha, que é cheio de ar quando se sopra dentro dele, mas que expulsa o ar do seu interior, quando se pára de soprar), enquanto o π é negativo, assim como o Ψ_a , pois é uma força que atrai a água para dentro da célula. Esta formulação torna mais fácil a mensuração da capacidade de gerar trabalho do sistema, pois, em vez de energia, pode-se usar a pressão como unidade de medida, pois energia por volume é pressão. Tendo em vista que o potencial químico da água pura e livre é maior que o da água em outra condição, o valor $\mu_a^A - \mu_a^0$ será sempre negativo e, por isto, o sinal do potencial da água (Ψ_a) é também negativo (Slatyer, 1967).

Outra formulação para o potencial químico da água nos sistemas vegetais, já vista no tópico anterior, seria:

$$W_{\text{máx}} = \mu_a A = \mu_a^0 + RT \ln a_a m_a A + P \bar{v}_a$$

que, sendo analisada, em comparação com a fórmula da energia livre de Gibbs ($G = H - TS$, que é o trabalho máximo do sistema), pode-se depreender que o termo $P \bar{v}_a$ é o componente essencialmente energético (H), e o termo $RT \ln a_a m_a A$ é o componente entrópico (TS). Por isto, quando a diferença de potencial químico entre duas fases é causada pelo termo da pressão, o movimento da água terá invariavelmente gasto de energia e, quando for causado por diferença de concentração, o movimento de água resultará da tendência de dispersão das moléculas (Nobel, 1999), que é entrópica, sem que haja necessariamente gasto de energia. Analisando alguns exemplos pode-se perceber o termo principal que gera a diferença de potencial químico: A) no fluxo de água entre dois pontos do xilema, o gradiente de potencial entre os pontos, em função da transpiração, é gerado quase que essencialmente pela pressão, com quase nenhuma contribuição do potencial osmótico. Este é um processo energético e não há variação entrópica do conteúdo do xilema; B) na absorção de água pelo vacúolo, a diferença de potencial entre o interior e o exterior é gerada essencialmente pelo componente osmótico; C) no movimento de água entre células, com diferentes distâncias do xilema, haverá participação dos dois componentes, o potencial de pressão (ou de turgescência) e o osmótico, e o movimento será em parte energético e em parte entrópico. Portanto, a difusão é um processo associado essencialmente à tendência de aumento da entropia (Nobel, 1999).

Uma outra consideração a ser feita é a conexão entre o potencial da água e a pressão de vapor, no ar por exemplo. Supondo que a água na forma de vapor esteja em equilíbrio entre duas fases, isto é, que a pressão parcial de vapor da água seja idêntica nas duas fases ($p_a B = p_a A$), não haverá trabalho. Caso isso não ocorra, o trabalho máximo obtível neste sistema e o conseqüente movimento de água de A para B, por exemplo, será dado, segundo Slavik (1974), por:

$$W_{\text{máx}} = \mu_a B - \mu_a A = RT \ln p_a B / p_a A \quad (\text{eq. I.30})$$

Para um sistema de uma única fase, comparando-se ao seu estado padrão, ter-se-á $\mu_a A - \mu_a^0 = RT \ln p_a A / p_a^0$ e, se dividirmos ambos os membros da equação por \bar{v}_a , teremos os valores de potencial da água (em termos de pressão). Por isso, na atmosfera com uma certa umidade relativa, o potencial da água é dado, segundo Slatyer (1967), por:

$$\Psi_{a,\text{atm}} = -RT / \bar{v}_a \ln \text{UR}\% \quad (\text{eq. I.31})$$

Assim, pode-se medir o potencial da água de uma folha, por exemplo, colocando-a em um ambiente fechado e, após o equilíbrio com a atmosfera do ambiente, medir-se a pressão parcial da água na atmosfera daquele ambiente (este é o princípio usado nas medições do potencial da água no solo e em tecidos vegetais, feitas com o microvoltímetro a ponto de orvalho).

Capítulo 2

A Planta e a Água



2.1 • FUNÇÕES DA ÁGUA

A água é uma das mais importantes substâncias na face da terra, e é essencial para a existência da vida, que muito provavelmente surgiu nos oceanos e depois migrou para a terra, que é um ambiente mais sujeito a estresses que os oceanos. Os gregos e chineses consideravam a água como um dos elementos básicos da origem do universo. Hoje se sabe que a disponibilidade de água não só limita o crescimento vegetal, como também a ocupação humana e vegetal, na Terra e em outros planetas.

A distribuição dos vegetais na superfície terrestre depende mais da disponibilidade de água que de qualquer outro fator ambiental (Tuner, 1986). Em áreas com grande disponibilidade de água, como nas florestas tropicais úmidas, encontra-se a maior diversidade biológica, e em áreas de baixa precipitação, como o Saara, tem-se a menor proliferação de vida. O conteúdo celular de água é superior a 90% na maioria dos tecidos vegetais de plantas herbáceas, chegando a mais de 95% em folhas de alface, em meristemas e em frutos; contudo, ela pode constituir apenas 5% da massa de certos líquens, esporos e sementes secas, o que lhes permite sobreviver longos períodos em condições de desidratação (anidrobiose) mas, para se tornarem metabolicamente ativos, um aumento do conteúdo de água é essencial para o seu desenvolvimento. A diminuição no conteúdo de água na célula, abaixo de um valor crítico, em geral em torno de 75%, provoca mudanças estruturais e, em última instância, a morte da célula (Teare & Peet, 1983).

Além disso, em meio aquoso ocorre a difusão de minerais, solutos celulares e gases, tanto na célula quanto entre órgãos. A relativa alta permeabilidade da maioria das paredes e membranas celulares resulta numa fase contínua para a difusão e translocação de solutos na planta. A água é também um importante reagente ou substrato para reações celulares imprescindíveis para todo tipo de vida conhecida, como, por exemplo, a fotólise da água, que é o processo inicial da fotossíntese, e que sustenta toda a biosfera. Ela é também a fonte do oxigênio molecular existente na atmosfera, que é produzido na fotossíntese, assim como do hidrogênio para reduzir o CO_2 a carboidrato. A vida só passou a ocupar o meio terrestre, mais adverso que o meio aquoso dos mares e lagos, após o enriquecimento da atmosfera em O_2 , e conseqüentemente, em O_3 , gerado pela fotólise da água, que absorve as ondas eletromagnéticas abaixo do ultravioleta, protegendo assim a célula contra mutações nocivas. A água, como meio, atua como um filtro para esses comprimentos de onda curtos, que são nocivos ao DNA. Outros processos,

como a hidrólise de macromoléculas, tais como a do amido em açúcares solúveis, são imprescindíveis na germinação de sementes ou na respiração noturna, quando não há produção de carboidratos pela fotossíntese, e a respiração de manutenção e, principalmente, a de crescimento, se mantêm. Outra função da água é a manutenção da turgescência celular, que sustenta a própria morfologia de plantas herbáceas, e que é essencial para o aumento de volume celular e crescimento do vegetal, abertura dos estômatos e movimentos de folhas e flores (Kramer & Boyer, 1995).

2.2 • PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

A importância da água para a biosfera decorre de suas propriedades físico-químicas únicas (Quadro 1), que já eram reconhecidas desde o século XIX, mas até hoje ainda persistem algumas dúvidas a respeito dessas propriedades. A água, com o seu peso molecular, só deveria existir, na temperatura ambiente, na forma de gás, e deveria ter um ponto de congelamento abaixo de -100°C . Contudo, ela existe como líquido na temperatura ambiente e seu ponto de congelamento é de 0°C . Ela possui, depois da amônia, o mais alto calor específico ($0,0754 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$, a 25°C ; que é a quantidade de energia requerida para aquecer um grama de água, de $14,5$ a $15,5^{\circ}\text{C}$); o seu calor de vaporização é de $2,26 \text{ MJ kg}^{-1}$, a 100°C , ou $40,7 \text{ kJ mol}^{-1}$, o que, por unidade de massa, é o maior valor de calor de vaporização de qualquer líquido conhecido; e a sua tensão superficial é de $0,0728 \text{ N m}^{-1}$ a 20°C , que é um valor bastante superior ao de outros líquidos (Nobel, 1999). A água também tem uma alta densidade, que é máxima a 4°C (menor volume da água), e o que é extraordinário é o fato da água expandir-se, assumindo uma estrutura mais organizada, ao congelar a 0°C e, por isso, o gelo tem um volume 9% superior à água líquida, o que explica porque o gelo bóia, como será discutido abaixo.

Quadro 1 • Propriedades físicas da água

Propriedade	Valor e unidade
Calor de fusão	$6,0 \text{ kJ mol}^{-1}$ (a 0°C)
Calor de vaporização	$40,7 \text{ kJ mol}^{-1}$ (a 100°C)
Calor específico	$0,0754 \text{ kJ mol}^{-1}\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ (a 25°C)
Tensão superficial	$0,0728 \text{ N m}^{-1}$ (a 20°C)
Pontes de hidrogênio	20 kJ mol^{-1} (para cada uma)
Ligação covalente (O-H)	464 kJ mol^{-1} (para cada uma)

No início do século XX, tomou-se ciência de que esta combinação de propriedades inusitadas não poderia existir num sistema composto por moléculas individuais de H_2O (Maximov, 1929). Hoje, sabe-se que as moléculas de água estão associadas numa estrutura mais ou menos organizada, dependendo de seu estado, que é mantida através das chamadas “pontes de hidrogênio”. Por exemplo, o gelo é caracterizado por uma estrutura tridimensional cristalina bem organizada, composta provavelmente por oito moléculas de água. Já a água na fase líquida está em maior desordem, e esta desorganização é máxima na fase de vapor. Essas propriedades físico-químicas da água, citadas no parágrafo anterior, são explicadas pela sua distribuição eletrônica, diferindo de outras moléculas que, como a água, também possuem 10 prótons e 10 elétrons, como por exemplo: CH_4 , NH_3 , HF e Ne . As grandes forças intermoleculares da água são decorrentes da estrutura da sua molécula. A distância internuclear entre o oxigênio e cada um dos átomos de hidrogênio é de 0,099 nm, e o ângulo entre as ligações dos átomos de hidrogênio é de 105° , e não de 180° , como seria de se esperar. Tendo em vista que o átomo de oxigênio é extremamente negativo, ele tende a atrair os elétrons dos átomos de hidrogênio, ficando com uma carga parcial negativa (δ^-), enquanto os dois átomos de hidrogênio, que não estão a 180° , ficam com uma carga parcial positiva (δ^+) entre eles. Estas cargas positivas dos átomos de hidrogênio são atraídas eletrostaticamente pelas cargas negativas dos átomos de oxigênio de moléculas vizinhas, formando assim as chamadas “pontes de hidrogênio”. Estas pontes de hidrogênio (ligações mais fracas que as eletrovalentes, como as covalentes) entre as moléculas de água, têm uma energia de 20 kJ mol^{-1} (enquanto as ligações covalentes, como a O-H, necessitam de 464 kJ mol^{-1} para serem rompidas), e promovem um aumento da organização molecular em soluções aquosas (Pauling, 1970). As pontes de hidrogênio têm uma meia-vida de 2×10^{-10} segundos, que são dificilmente detectadas e, por isto, ainda existem dúvidas a respeito da estrutura da água líquida e sobre a maneira que as suas moléculas se arranjam no espaço.

O gelo tem uma estrutura cristalina mais organizada que na fase líquida (por isso, o gelo tem um maior volume e menor densidade que a água líquida) e, à medida que energia é absorvida para derreter o gelo, algumas destas ligações são quebradas (13 a 15% delas são quebradas para a fusão do gelo, e 8% das moléculas de água escapam da estrutura cristalina). Quando a temperatura sobe acima de 4°C , aumentam a quebra e as deformações das pontes de hidrogênio, resultando em um aumento do volume. Na forma de gelo, cada molécula de água é ligada a moléculas adjacentes por quatro pontes

de hidrogênio, enquanto no estado líquido, a 25°C, cada molécula de água é ligada, em média, por 3,8 pontes de hidrogênio (Tyree, 1997). A total ruptura dessas pontes de hidrogênio ocorre com a vaporização da água, quando as moléculas de água são todas separadas (aumento da entropia) e, por isto, o calor de vaporização da água é o mais alto encontrado na natureza, pois muita energia é requerida para romper as pontes de hidrogênio. Esta propriedade tem uma importância capital para a vida na Terra, pois a evaporação da água dos oceanos (2/3 da superfície terrestre) absorve calor da atmosfera, impedindo o aumento da temperatura ambiente, acima dos limites suportáveis para a maioria das formas de vida (Nobel, 1999). Além disto, a evaporação da água na planta com a transpiração, na câmara subestomática foliar, absorve calor dos tecidos, promovendo o seu resfriamento. A perda de calor através da evaporação da água, pela transpiração, é o mecanismo primário de regulação da temperatura em plantas terrestres, dissipando assim grande parte do calor absorvido da radiação emitida pelo sol (Slatyer, 1967).

Além dessas propriedades únicas, a água é muito pouco ionizada, e somente uma molécula em $55,5 \times 10^7$ é dissociada. Ela é um bom solvente para eletrólitos, pois a atração de íons nas cargas parciais, negativa e positiva, da molécula de água mantém os íons de cargas opostas separados, pois estes íons ficam envolvidos por ligações com os dipolos da água, como na dissolução do NaCl em água, por exemplo. A água é também um bom solvente para não-eletrólitos, como as substâncias polares ou assimétricas, pois pode formar pontes de hidrogênio com o nitrogênio dos grupamentos amino, com o oxigênio dos grupamentos carboxílicos e com outros átomos, o que a faz ser adsorvida na superfície de partículas de vidro, argila, celulose, proteínas e outras substâncias. A alta viscosidade e tensão superficial da água são também devidas a essas pontes de hidrogênio.

A atração intermolecular entre moléculas de uma mesma espécie, como a atração entre duas moléculas de água, é chamada de **força de coesão**, e a atração entre as fases líquida e sólida, como entre a água e a parede interna do xilema ou de um tubo de vidro de pequeno diâmetro, é chamada de **força de adesão**. Se existissem somente as ligações iônicas e covalentes, não haveria líquidos e sólidos, visto que estas ligações não permitem interações entre as moléculas. As interações entre moléculas se fazem pelas pontes de hidrogênio e pelas chamadas forças de van der Waals ou de London (Kramer & Boyer, 1995). Estas últimas são iguais à atração eletrostática, entre elétrons de uma molécula e o núcleo de uma molécula adjacente, menos as forças de repulsão

intereletrônica e internuclear, em moléculas muito próximas, como as pontes de hidrogênio, mas com menor intensidade. Assim, na planta, existe uma coluna de água contínua desde a raiz até a parte aérea que, sob alta transpiração e conseqüente tensão no xilema, pode ser rompida por um pequeno espaço no xilema, mas que se agrega quando a transpiração diminui, o que é a teoria de adesão-coesão do transporte de água até a parte aérea, que se mantém por até mais de 100m, como nas sequóias (Tyree, 1997).

2.3 • PROPRIEDADES DE SOLUÇÕES AQUOSAS E OUTRA DEDUÇÃO DO POTENCIAL DA ÁGUA NOS SISTEMAS BIOLÓGICOS

A fisiologia vegetal dificilmente lida com sistemas compostos por água pura, pois, na maioria dos casos estudados, existem solutos dissolvidos na solução aquosa, seja no solo ou na planta e, na atmosfera, existem outros gases, além do vapor d'água. Como foi visto no primeiro capítulo, complementado com a discussão feita acima sobre as interações da água com outras moléculas do sistema, percebe-se que, ao se adicionar solutos à água, diminui a sua (da água) atividade, e conseqüentemente o seu potencial químico e a sua pressão parcial de vapor na solução, pois esta fica diluída pela adição de solutos. Ela fica mais retida pelas interações eletrônicas com estes solutos, dificultando a sua movimentação para fora deste sistema, por exemplo. Quando se fala na atividade de uma substância e, conseqüentemente, na sua concentração, se pensa na atividade de um soluto numa solução porém, pode-se avaliar também a atividade, ou concentração, do solvente, que é diminuída pela adição do soluto. A água está mais concentrada, com máxima atividade, quando está pura e livre do que com a adição de um soluto; nestes dois sistemas, quando postos em contato, a água vai se movimentar de onde está mais concentrada (pura) para onde está diluída pelos solutos, e menos concentrada (Slavik, 1974).

Isto pode ser visto pela lei de Raoult, que estabelece uma proporcionalidade entre a pressão parcial do solvente água numa solução (e), e a fração molal do solvente água (N_a), para soluções de solutos não dissociados, mas que pode ser usada para soluções diluídas (Chagas, 1999). E portanto:

$$e = e_0 N_a = e_0 (n_a / n_a + n_s) \quad (\text{eq. 2.1})$$

onde e é a pressão parcial do solvente água, na solução, e_0 é a pressão parcial do solvente água pura, n_a é o número de moles do solvente água na solução e n_s é o número de moles do soluto. Esta equação só é aplicável para soluções molais diluídas, com um mol ou menos por 1000g de água. Esta equação

apresenta mais uma justificativa de que o valor da pressão parcial da água em soluções e, conseqüentemente, o seu potencial químico sejam menores que o da água pura e livre, pois a adição de solutos diminui a fração molal da água na solução (N_a), visto que o número de moles do soluto (n_s) é um valor do denominador da equação (Pauling, 1970).

A equação de Raoult mostra que a adição de solutos à solução aquosa diminui o potencial químico da água proporcionalmente à quantidade de moles do soluto adicionados. Assim, a água vai sempre se mover de um sistema onde esteja mais concentrada, com menos solutos, para um sistema onde ela esteja menos concentrada, ou seja, com mais solutos. A adição de solutos num sistema vai atrair a água do meio, onde ela esteja mais concentrada. Por isto, pondo-se água pura em um cilindro, conectado a um outro cilindro de mesmo diâmetro e volume, com uma solução aquosa, e sendo estes cilindros separados por uma membrana permeável à água mas impermeável ao soluto, a água pura irá passar para a solução, devido ao gradiente de fração molal da água, que é menor na solução. Se uma pressão for aplicada ao cilindro com a solução, para conter o aumento do volume deste cilindro, devido à entrada da água, esta pressão será igual à pressão osmótica da solução (Π) que, por sua vez, é igual, em módulo, ao potencial da água na solução ($-\Psi_{a,sol}$), que é composto somente por seu potencial osmótico ($-\Psi_{\pi}$). Este é o princípio do osmômetro. Deve-se ressaltar que existe muita controvérsia no uso dos termos “pressão osmótica” e “potencial osmótico”. A pressão osmótica é aquela pressão gerada no osmômetro, quando em contato com a água pura e, portanto, uma solução isolada não tem pressão osmótica, e ela só apresentará esta pressão quando colocada no osmômetro. Já o potencial osmótico é o valor negativo desta mesma quantidade, que é um componente do potencial da água, e também é negativo, segundo Nobel (1999). Portanto, a pressão osmótica será referida como Π e o potencial osmótico como $-\Psi_{\pi}$ ($\Psi_{\pi} = -\Pi$).

Van't Hoff desenvolveu uma equação, relacionando a pressão osmótica à concentração do soluto (Pauling, 1970), que é expressa por:

$$\Pi V = n_s RT \quad (\text{eq. 2.2})$$

ou, como visto no final do Capítulo 1, expressando esta equação, em termos da atividade da água (a_a):

$$\Pi \bar{v}_a = RT \ln a_a \quad (\text{eq. 2.3})$$

onde Π é a pressão osmótica, em megapascal (MPa), V é o volume do solvente, em metros cúbicos, n_s é o número de moles do soluto, R é a constante de gases ($8,32 \times 10^{-6}$ MPa m³ mol⁻¹ K⁻¹), K é a temperatura, em

graus Kelvin e, na segunda forma da equação, \bar{v}_a é o volume parcial molal da água e \mathbf{a}_a é a atividade da água.

Esta segunda expressão da equação de Van't Hoff pode ser usada para o cálculo da pressão osmótica (Π) e, com sinal negativo, do potencial osmótico (Ψ_π) de qualquer solução (Kramer & Boyer, 1995). A atividade da água (\mathbf{a}_a) é igual a $\gamma_a N_a$, onde γ_a é o coeficiente de atividade da água e N_a é a sua fração molal. A fração molal da água em uma solução (eq. 2.1), com vários solutos dissolvidos, pode ser expressa por:

$$\begin{aligned} N_a &= n_a / (n_a + \sum n_j) = (n_a + \sum n_j - \sum n_j) / (n_a + \sum n_j) = \\ &= 1 - [\sum n_j / (n_a + \sum n_j)] \end{aligned} \quad (\text{eq. 2.4})$$

onde $\sum n_j$ é o somatório do número de moles de cada um dos solutos existentes na solução.

Para uma solução ideal, γ_a é igual a um e, em uma solução diluída, esta também pode ser considerada como sendo igual à unidade, pois n_a é muito maior que o $\sum n_j$. Usando a eq. 2.3, assumindo que a solução diluída é ideal, obtém-se a seguinte relação para $\ln a_a$:

$$\ln a_a = \ln N_a = \ln [1 - [\sum n_j / (n_a + \sum n_j)]] \quad (\text{eq. 2.5})$$

que pode ser aproximada como:

$$\ln a_a \cong \sum n_j / (n_a + \sum n_j) \cong -\sum n_j / n_a \quad (\text{eq. 2.6})$$

pois o $\ln(1-x) = -x - x^2/2 - x^3/3 - \dots$ é uma série que converge para $|x|$ muito menor que 1 e, portanto, o $\ln [1 - \sum n_j / (n_a + \sum n_j)]$ pode ser considerado como sendo quase igual a $-\sum n_j / (n_a + \sum n_j)$. Sendo o n_a muito maior que $\sum n_j$ (solução muito diluída), pode-se dizer que $-\sum n_j / (n_a + \sum n_j)$ é aproximadamente igual a $-\sum n_j / n_a$ (Nobel, 1999). Nesse caso, o cálculo correto da pressão osmótica de uma solução pode ser feito usando a eq. 2.3, como sendo:

$$\Pi = RT / \bar{v}_a \ln [1 - [\sum n_j / (n_a + \sum n_j)]] \quad (\text{eq. 2.7})$$

que, por sua vez, pode ser calculado com um valor aproximado, segundo Nobel (1999):

$$\Pi \cong RT / \bar{v}_a (-\sum n_j / n_a) \cong RT (\sum n_j / \bar{v}_a n_a) \cong RT \sum C_j \quad (\text{eq. 2.8})$$

sendo este último uma expressão da concentração molal dos solutos j (C_j), em moles de j por quilo de água. Portanto, pode-se calcular o Ψ_π de uma solução (que é igual a $-\Pi$), através da equação 2.7 ou, mais simplesmente, com uma boa aproximação para as soluções diluídas, através da equação 2.8, que é conhecida como relação de Van't Hoff (Kramer & Boyer, 1995; Nobel, 1999).

2.4 • POTENCIAL DA ÁGUA NO SOLO, NA PLANTA E NA ATMOSFERA

Como foi discutida no Capítulo 1, a expressão do potencial químico da água em unidades de energia, como joules mol⁻¹, é de difícil mensuração, e é inconveniente para as discussões das relações da água em tecidos vegetais, sendo que seria mais conveniente o uso de unidades de pressão. Assim, dividindo-se os dois lados da equação 1.30 pelo volume parcial molar da água (\bar{v}_a , em m³ mol⁻¹) ter-se-á energia, em joules por m⁻³, que é equivalente à pressão, em newtons m m⁻³ (J = N m) ou newtons m⁻², que, por sua vez, é igual a megapascal (Tyree, 1997), e que é a unidade usada no sistema internacional (SI). O termo resultante é chamado de potencial da água, que é proporcional ao potencial químico da água:

$$(\mu_a - \mu_a^0) / \bar{v}_a = RT / \bar{v}_a \ln p_a A / p_a^0 = \Psi_a \quad (\text{eq. 2.8})$$

O potencial da água em qualquer sistema é afetado pelos fatores que reduzem ou aumentam a pressão parcial de vapor da água do sistema. Os fatores que reduzem a pressão parcial da água num sistema vegetal, segundo Kramer & Boyer (1995), são:

1) A adição de solutos, que diluem a água e diminuem a sua atividade por hidratação dos solutos ou íons. Este é o chamado componente osmótico ($-\Psi_\pi$) do potencial da água.

2) A adição de sólidos porosos ou com cargas eletrostáticas que interagem com a água, por tensão superficial e microcapilaridade, como é o caso das partículas de argila, com cargas negativas na superfície, e da parede celular (a pectina da lamela média) ou de macromoléculas como proteínas, onde ocorrem pontes de hidrogênio com o -O-, OH⁻ e COO⁻. Todas essas forças são chamadas de forças matriciais (pelo tamanho das partículas em relação à água), e são incluídas no componente matricial ($-\Psi_M$) do potencial da água. O componente matricial do potencial de água assume maior importância no sistema solo que no sistema vegetal, pois no primeiro existem os meios sólido, líquido e gasoso (representado pelo volume de ar no solo), enquanto no tecido vegetal tem-se os meios sólido e líquido, mas o meio gasoso é insignificante. O componente matricial tem importância para dificultar a vaporização da água, do meio líquido para o ar, no solo.

A temperatura (no estado gasoso da água na atmosfera, principalmente, vide Tabela 1) e a força da gravidade (em árvores de grande porte, por exemplo) são forças que também diminuem a pressão parcial da

água do sistema, conforme as equações 1.25 e 1.27, porém não são normalmente incluídas como um componente do potencial da água.

Tabela 1 • Valores do potencial da água na atmosfera ($\Psi_{a,atm}$), em MPa, e do déficit de pressão de vapor de água na atmosfera (DPV), em kPa, em relação à umidade relativa do ar (UR%), nas temperaturas do ar de 20 e 30°C

UR %	$\Psi_{a,atm}$ *		$\Psi_{a,atm}$ *	
	20°C	30°C	20°C	30°C
100,0	0,0	0,000	0,0	0,000
99,0	-1,3	0,023	-1,4	0,042
95,0	-6,9	0,117	-7,2	0,212
85,0	-21,9	0,351	-22,7	0,637
75,0	-38,8	0,585	-40,2	1,061
50,0	-93,5	1,169	-96,8	2,123
30,0	-162,5	1,637	-168,1	2,972
20,0	-217,3	1,871	-224,7	3,396
5,0	-404,4	2,222	-418,2	4,034
0,5	-715,3	2,327	-739,6	4,225

*Os valores do $\Psi_{a,atm}$ foram calculados segundo a fórmula:
 $\Psi_{a,atm} = -RT / \bar{V}_a \ln UR\%$ (Kramer & Boyer, 1995).

Os fatores que aumentam a pressão parcial da água num sistema são:

1) A diluição ou remoção de solutos do sistema, tornando menos negativo o potencial osmótico (diminuindo a pressão osmótica).

2) A aplicação de uma pressão acima da pressão atmosférica ambiente, como a pressão exercida pela parede celular, que é elástica, sobre o conteúdo aquoso da célula (como num balão de gás cheio, que expulsa o ar do seu interior, quando perfurado, por exemplo), afetando o turgor celular. Este é o chamado componente de pressão ou de turgescência ($+\Psi_T$) do potencial da água. Portanto, o potencial da água num sistema é dado por:

$$-\Psi_a = -\Psi_\pi - \Psi_M + \Psi_T \text{ ou } P \quad (\text{eq. 2.9})$$

No solo, o componente de turgescência não existe (alguns autores incluem o componente gravitacional), e portanto o potencial da água é dado por:

$$-\Psi_a(\text{no solo}) = -\Psi_\pi - \Psi_M \quad (\text{eq. 2.10})$$

Já na planta, o componente matricial não é importante. Apesar de existir, este não interfere significativamente no movimento da água nos tecidos

(Slatyer, 1967; Dainty, 1976). Por isto, o potencial da água em tecidos vegetais é controlado por:

$$-\Psi_a(\text{na planta}) = -\Psi_\pi + \Psi_p \quad (\text{eq. 2.11})$$

O último sistema a ser estudado nas relações da água com os vegetais, mas que exerce grande influência no movimento da água no *continuum* solo-planta-atmosfera é a atmosfera, onde o potencial da água é dado pela pressão parcial da água em relação aos outros gases da atmosfera. Nesse sistema, deve-se ressaltar que a pressão de vapor da água máxima, que pode ocorrer na atmosfera, é dependente da temperatura, na chamada curva do ponto de orvalho (Nobel, 1999). Com o abaixamento da temperatura, diminui esse valor máximo e, assim, parte da água que estava no estado gasoso (se a atmosfera tiver alta umidade relativa) pode passar ao estado líquido, como na formação do orvalho com as baixas temperaturas noturnas. Com o aumento da temperatura, durante o dia, aumenta o valor da pressão de vapor máxima do ar e, conseqüentemente, aumenta a vaporização da água líquida até o limite dado pelo valor da pressão de vapor máxima, equivalente a 100% da umidade relativa para aquela temperatura. Assim, o potencial da água na atmosfera pode ser calculado em função da umidade relativa do ar, a uma dada temperatura, como mostrado na equação 1.31 ($\Psi_a(\text{na atmosfera}) = -RT / \bar{v}_a \ln \text{UR}\%$) (Slatyer, 1967; Milburn, 1979). Deve-se ressaltar que a umidade relativa do ar é dada em porcentagem da máxima pressão parcial de vapor de água, naquela temperatura. A diferença entre a pressão parcial atual da água e a pressão parcial máxima da água (100%), o chamado déficit de pressão de vapor de água (DPV), que diminui o potencial de água na atmosfera, é proporcional à temperatura ambiente. Quanto mais alta for a temperatura do ar, maior a quantidade de água, no estado de vapor, que a atmosfera pode manter. Por isso, o DPV, para o mesmo valor de UR%, a 20°C, é menor que a 30°C, por exemplo (Tabela 1).

2.5 • A CÉLULA EM RELAÇÃO À ÁGUA

A célula é a estrutura básica de todos os organismos, porém a organização dos vegetais pode variar desde simples estruturas unicelulares a complexas estruturas multicelulares, com inúmeros órgãos e atividades fisiológicas bastante distintas. Com a maior complexidade dos organismos, o sistema de absorção de água também se torna mais sofisticado, pois a água se movimenta por maiores distâncias, deve ser estocada em compartimentos específicos, e o vegetal deve controlar a sua absorção e perdas para o meio

onde está se desenvolvendo. Contudo, a célula, mesmo nos organismos mais complexos, continua sendo a unidade central que controla as respostas do vegetal à disponibilidade de água no solo e na atmosfera, e a variação das características físico-químicas dela resulta em aclimação do vegetal ao meio ambiente. Este controle das características físico-químicas da célula e do vegetal, e sua conseqüente aclimação (fenotípica) ou adaptação (genotípica) são maiores ou menores segundo a espécie e variam também entre genótipos de uma mesma espécie (Kramer & Boyer, 1995).

A célula vegetal é constituída do citoplasma, com múltiplas organelas (vacúolos, cloroplastos, mitocôndrias etc.), que é envolvido por uma membrana, a plasmalema, e pela parede celular. O conjunto formado por citoplasma e plasmalema é chamado de protoplasma. A parede celular é composta por lamela média, parede primária e parede secundária. A lamela média é constituída de pectina, que é formada por vários compostos, sendo os mais importantes são os ácidos poligalacturônicos que, por possuírem cargas negativas, responsáveis pela capacidade de troca catiônica (CTC) do apoplasto (que é o espaço exterior à plasmalema, dentro do tecido vegetal), que nas raízes é chamado espaço livre de Donnan. A parede primária já se desenvolve em células jovens, e é composta por uma estrutura porosa, constituída de microfibrilas de celulose (em torno de 10 nm de diâmetro) com baixo grau de polimerização, e de hemicelulose (xilanos em monocotiledôneas e xiloglucanos em dicotiledôneas), que são embebidas numa matriz de oligossacarídeos e algumas proteínas estruturais, principalmente glicoproteínas, o que demonstra que existe atividade metabólica na lamela média e na parede primária. As microfibrilas provêm a força tênsil da parede e a matriz mantém as microfibrilas interligadas numa forma organizada. A orientação das microfibrilas controla o crescimento celular para determinadas direções e, quando a célula pára de crescer, camadas adicionais de parede celular (parede secundária) são depositadas entre a plasmalema e a parede primária. Esta parede secundária contém celulose com alto grau de polimerização, com menos hemicelulose e proteínas que a primária, além de ligninas, principalmente em monocotiledôneas, suberinas, mais em dicotiledôneas (Zeier *et al.*, 1999), e outros compostos, que dão as características especiais de rigidez e impermeabilidade próprias às árvores, cascas de castanhas e outros tecidos vegetais (Sattelmacher, 2001). Devido a estas diferenças na composição da parede celular de mono e dicotiledôneas, estas últimas têm maior concentração de pectinas, compostas por ácidos poligalacturônicos, com

cargas negativas que retêm cátions e, por isso, têm a capacidade de troca catiônica (CTC) duas a três vezes maior que as monocotiledôneas. Nas dicotiledôneas, há uma maior dificuldade de penetração de cátions, sendo elas também mais sensíveis à toxidez de Al^{+3} , e uma maior exclusão de ânions, como o $H_2PO_4^-$, que é limitante na maioria dos solos tropicais (Marschner, 1995). Isso mostra que o movimento de íons no apoplasto é caracterizado por interações eletrostáticas com a parede celular e no chamado Espaço Livre Aparente (ELA), que corresponde a mais ou menos 5% do volume da raiz. O ELA é dividido em Espaço Livre de Donnan (ELD), onde a água e os íons interagem com as cargas da parede, e o Espaço de Água Livre (EAL), onde o movimento de água e de íons não é influenciado pelas cargas negativas da parede. A relação entre o ELD e o EAL é de 20% para 80%, e o ELD é responsável pela CTC da raiz, que não é constante, variando com o ambiente, e é regulada por enzimas como a pectina metilesterase (PME). As pectinas da parede celular têm uma grande influência na condutividade hidráulica da raiz e, em conjunto com a extensina, afetam a elasticidade da parede (Sattelmacher, 2001), que vai controlar a expansão celular (Neumann, 1995), como será visto adiante, com a equação de Lockhart para o crescimento.

Na parede celular existem dois tipos de poros: uns mais largos, os plasmodesmos, preenchidos por protoplasma, que conectam as células adjacentes, permitindo o transporte de solutos e água; e outros menores (0,3 a 6,5nm) e mais numerosos. Estes últimos podem ter controle de sua abertura para contato com o exterior celular, permitindo a passagem de água e pequenos solutos, como açúcares, aminoácidos, lipídeos e pequenas proteínas, e são chamados de canais e bombas iônicas (Stryer, 1995). Os plasmodesmos são usados no transporte, de célula a célula, simplástico de água em tecidos vegetais e os canais iônicos, principalmente as aquaporinas (vide abaixo), são usados no transporte, de célula a célula, de água em plantas (Steudle & Peterson, 1998), como será discutido no próximo capítulo.

Já a membrana celular, formada por uma dupla camada de fosfolipídeos e algumas proteínas intrínsecas e extrínsecas (canais iônicos, ATPases, receptores membranares etc.), permite uma certa difusão da água, mas não para os solutos, que são transportados através dos canais e bombas iônicas específicos, localizados na membrana celular. Estes canais e bombas podem ter um gasto de energia direto no processo de transporte, como nas bombas de prótons, ou indireto, na geração do gradiente eletroquímico

necessário ao transporte e à abertura dos canais iônicos, por exemplo (Stryer, 1995). Já a difusão facilitada da água se dá através de canais específicos, chamados de aquaporinas [mas há gasto de energia nesse transporte (Javot & Maurel, 2002)], que são proteínas intrínsecas às membranas (PIM), com 0,3 a 0,4nm (Maurel, 1997). Estes canais podem regular o transporte de água, de célula a célula (também chamado de transporte transcelular), segundo Steudle (2000), durante o crescimento e desenvolvimento vegetal. Eles interferem também na resposta aos estresses ambientais, tais como encharcamento (falta de O_2), déficit hídrico, salinidade e baixas ou altas temperaturas, regulando a condutividade hidráulica da raiz ($L_{p,r}$) (que, portanto, é variável, ao contrário do que se pensava antigamente) e o fluxo de água nestas condições de estresse (Steudle, 2001). O mecanismo de transdução de sinais, entre o estímulo externo (um estresse por exemplo) e a atividade dessas proteínas, parece ser controlado pela sua fosforilação, através de cinases, que aumenta a sua atividade, ou pela sua desfosforilação, que a diminui. Esses canais de água facilitam o fluxo de água através das membranas, pois o fluxo de água é determinado primariamente pelos gradientes hidrostático ($\Delta\Psi_T$) e osmótico ($\Delta\Psi_\pi$), mas para a geração do gradiente, energia foi gasta. O efeito da atividade metabólica sobre o transporte de água é indireto portanto, pois a redução da respiração radicular, por exemplo, vai diminuir a produção de energia necessária para gerar o gradiente de Ψ_a e o conseqüente fluxo de água (Javot & Maurel, 2002). As variações de permeabilidade da água encontradas principalmente na zona suberizada das raízes refletem, em grande parte, as propriedades de suas membranas e, conseqüentemente, de suas aquaporinas (Steudle, 1994).

Porém, as aquaporinas não são as únicas proteínas responsáveis pelo transporte de água transcelular, pois, na maioria dos canais iônicos, o transporte de um íon está acoplado ao transporte de 5 a 10 moléculas de água. Em *Chara*, por exemplo, o transporte de um mol de K^+ , através de seu canal iônico, está acoplado ao transporte de 25 moles de água. Além dos canais iônicos, a água também pode atravessar as membranas celulares através da bicamada de fosfolípidos. Contudo, as aquaporinas parecem mediar as rápidas e grandes variações no transporte de água transcelular (Maurel, 1997). Esse transporte de água, via aquaporinas, é importante na via transcelular do transporte axial de água na raiz, por exemplo; porém, as aquaporinas parecem não ser tão seletivas para a água, como a princípio se pensava, e álcoois, cetonas, amidas e outras pequenas moléculas também

podem ser transportadas por esses canais. O fechamento das aquaporinas pode causar uma redução de 75% do fluxo hidráulico em *Chara*, e resultados semelhantes já foram obtidos em raízes de milho. Por isto, a absorção de água pelas partes mais velhas das raízes e em raízes suberizadas é controlada em grande parte pelas aquaporinas, e a atividade desses canais de água é afetada por salinidade, concentração de solutos na solução do solo, temperatura e metais pesados (Steudle, 2001). Porém, mais estudos são necessários para se determinar a função e o efeito destes canais no transporte transcelular da água (Steudle & Peterson, 1998; Steudle, 2000). Esses resultados recentes ajudam a explicar, por exemplo, o efeito da irrigação em um solo seco, nas horas mais quentes do dia, que diminui a absorção de água pelas plantas, causando um certo murchamento. Sendo a absorção de água ativa, em parte, o resfriamento do solo, causado pela evaporação da água de irrigação, diminui a respiração radicular e geração de energia para a absorção ativa da água pelas aquaporinas.

Por outro lado, no protoplasma (citoplasma e plasmalema incluídos) da célula, a concentração de solutos é tipicamente de 0,5 a 1 molal superior à concentração destes no exterior, causando uma grande tendência à entrada de água na célula. Por isso, o aumento de volume, causado pela entrada de água, tem de ser refreado pela resistência da parede celular (como num balão de gás que é inflado e a borracha do balão tende a expulsar o gás no interior), criando a pressão de turgescência, que pode aumentar até se igualar à pressão osmótica. Portanto, em células túrgidas, o componente de pressão da água na célula é variável, mas o componente osmótico, em células não estressadas, não é, mesmo nas organelas celulares; pois, se houver variação na concentração de solutos nestas organelas, a água do citosol imediatamente entra na organela reestabelecendo o equilíbrio de Ψ_a em todo o protoplasma. Um bom exemplo desse equilíbrio é o que ocorre no vacúolo central de células maduras, que é a organela dominante do seu protoplasma. Em células jovens, esta organela tem um volume negligenciável, e a maior parte do compartimento celular é composta pelo citoplasma. Com o seu desenvolvimento, o vacúolo também aumenta de volume, ocupando grande parte do protoplasma, acumulando sais e alguns metabólitos de reserva. O aumento da pressão osmótica no seu interior causa a entrada de água no vacúolo, estabelecendo um equilíbrio constante entre este e o citoplasma, pois a condutividade hidráulica do tonoplasto (membrana vacuolar) é alta (Steudle & Peterson, 1998). Este balanço osmótico também ocorre entre as células vizinhas de um tecido, pois a água, os solutos e algumas macromoléculas passam de uma célula para outra,

através do plasmodesma, havendo uma unidade do chamado simplasto, que é o espaço intracelular, nos tecidos vegetais adjacentes. Já espaço extracelular à plasmalema, nas paredes celulares e entre estas, é chamado de apoplasto (Teare & Peet, 1983), como foi dito anteriormente, e será discutido no próximo capítulo, para o transporte de água na raiz.

Contudo, sob desidratação ou salinização, o balanço osmótico celular é dificilmente mantido, devido à perda de água para o meio externo pela transpiração, sem reposição pela absorção radicular e, assim, a concentração de solutos celulares aumenta passivamente, devido à diminuição do conteúdo de água celular (Morgan, 1984). Este processo deve ser ressaltado para diferenciá-lo do processo de ajustamento osmótico, que será discutido nos próximos capítulos, em que há gasto de energia para a acumulação de solutos (Passioura, 1986).

Outrossim, com a diminuição do conteúdo de água celular, devido ao estresse, a estrutura celular é alterada e a plasmalema e o tonoplasto sofrem a ação de enzimas hidrolíticas, tais como lipases, proteases, peroxidases e outras (Vieira da Silva, 1976). As ações dessas enzimas, ativadas sob desidratação, causam alteração da composição membranar, da sua seletividade para os solutos e da sua fluidez, permitindo a extrusão de solutos (Pimentel *et al.*, 2000). Com o estado avançado de desidratação, estas membranas podem se romper, ocorrendo a descompartimentalização celular. Este efeito sobre as membranas celulares é variável segundo as espécies e mesmo dentro de uma espécie, sugerindo que a tolerância celular à desidratação pode ser determinada, em parte, pelas propriedades físico-químicas das suas membranas, principalmente do grau de saturação de seus fosfolipídeos, que vai diminuir a vazão de íons e o seu rompimento (Vieira da Silva, 1976).

Para que haja expansão celular, o componente de pressão do potencial da água na célula, o Ψ_T , gera a turgescência celular para promover o crescimento, considerado como sendo o aumento irreversível no volume celular, mas não é o único fator de controle do crescimento. O crescimento é dependente da turgescência celular, mas também depende do coeficiente de extensibilidade de parede, que é controlado pela célula e, portanto, o crescimento é determinado pela equação de Lockhart:

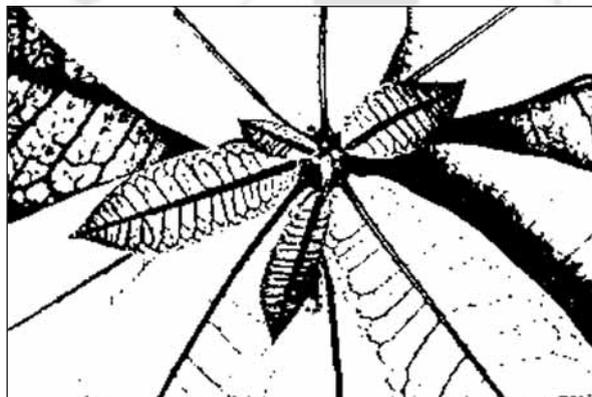
$$C = m (P - Y) \quad (\text{eq. 2.12})$$

onde m é o coeficiente de extensibilidade de parede celular, que é controlado pela célula (Neumann, 1995), P é o potencial de turgescência atual da célula, e Y é o potencial de turgescência mínimo requerido para iniciar a expansão irreversível da parede celular (Poljakoff-Mayber & Lerner, 1994). Isto é, se a

parede celular enrijecer, não adianta ter uma alta pressão de turgescência, pois não poderá haver aumento irreversível de volume e conseqüente crescimento. Por isso, a avaliação do ajustamento osmótico (acumulando ativamente mais solutos no interior da célula e, por conseqüência, abaixando o seu Ψ_{π} , à medida que a disponibilidade de água e o Ψ_a diminuem), como indicador de tolerância à seca para o melhoramento vegetal, não se correlaciona com a produtividade do milho, sob deficiência hídrica (Bolaños & Edmeades, 1995). Provavelmente isto ocorre porque o principal mecanismo de adaptação está ao nível da composição de parede e do seu ajuste de extensibilidade. Os genótipos que podem reduzir a extensibilidade da parede terão um Ψ_{π} superior, menos negativo, mas conseguem continuar a absorver água, pois mantêm o volume celular e, com isso, precisam acumular menos solutos para promover a entrada de água na célula (Pimentel, 1999).

Capítulo 3

A Água no Sistema Solo-Planta-Atmosfera (SSPA)



3.1 • INTRODUÇÃO

Apesar da importância da água para o metabolismo vegetal, assim como para a sua constituição, a quantidade de água existente na planta é pequena, quando comparada com a quantidade de água que passa pela planta através da transpiração. Porém, a transpiração tem efeitos importantes na agricultura tropical, como o resfriamento da folha, pois, para evaporar-se na folha, a água absorve energia térmica desta (devido ao seu alto calor de vaporização - vide Capítulo 2), reduzindo a temperatura foliar em 2 a 3°C (Milburn, 1979). Além do resfriamento da folha, a transpiração tem também importância para a aquisição e transporte dos nutrientes do solo para os diferentes tecidos do vegetal. Ainda segundo Milburn (1979), o fluxo transpiratório auxilia o transporte e absorção de nutrientes quando estes são abundantes, mas o principal efeito da transpiração é o resfriamento de folhas, que pode cessar com o fechamento estomático, pois estas são mais capazes de conviver com altas temperaturas que com a falta d'água.

Em termos químicos, a água é importante na reação fotossintética, por exemplo, pois seis moléculas de CO_2 reagem com uma molécula de H_2O para formar uma molécula de glicose. Mas deve-se ressaltar que, com a desidratação dos tecidos de vegetais superiores, em geral, a morte da planta ocorre quando o conteúdo de água se situa em torno de 75% e, portanto, ainda existe uma grande quantidade de água para a reação fotossintética (Kramer & Boyer, 1995). A diminuição do conteúdo em água nos tecidos vai afetar a fotossíntese de outra forma. Em um primeiro estágio, a falta de um suprimento adequado de água causa o fechamento estomático, que pode ocorrer mesmo em plantas irrigadas, nas horas mais quentes do dia (Schulze, 1986; Tardieu & Simonneau, 1998), quando o DPV do ar é alto (vide Capítulo 2) e a absorção de água pelas raízes não supre a demanda atmosférica, diminuindo assim a disponibilidade de CO_2 no mesófilo. Com o déficit mais severo, a deficiência hídrica causa diminuição da atividade das enzimas envolvidas nas reações fotossintéticas (Lauer & Boyer, 1992; Kramer & Boyer, 1995) e altera a integridade membranar (Vieira da Silva, 1976) e, conseqüentemente, os processos dependentes, como a atividade dos fotossistemas (Pimentel *et al.*, 1999a). Segundo Teare & Peet (1983), a quantidade de água utilizada para a produção de 1kg de trigo é de aproximadamente 1000kg, para 1kg de arroz ou de frutas secas é de 2500kg, e para a produção de 1kg de fibra de algodão é de 5000kg. Neste quilo produzido, somente 0,15kg é composto de água, e o restante passou pela planta para a atmosfera, através da transpiração.

Quando há disponibilidade de água no solo, esta se movimenta, por difusão, do solo para a planta e da planta para a atmosfera, no sistema contínuo solo-planta-atmosfera, o “SSPA” (Angelocci, 2002). A água está no estado líquido no solo e na planta, até a superfície das paredes celulares da folha, na câmara subestomática, ou na epiderme, onde ela se vaporiza, passando para a atmosfera no estado gasoso (Sutcliffe, 1971). Este movimento de difusão da água ocorre devido ao gradiente de Ψ_a , que existe entre o solo (a princípio, com o maior Ψ_a do SSPA), a planta (com menor Ψ_a que o do solo) e a atmosfera (em geral, com menor Ψ_a que o da planta e solo), o que provoca o transporte da água do solo para a planta, à medida que esta perde água para a atmosfera, pela transpiração (Winter, 1976). O movimento de água nesse sistema pode ser comparado ao da corrente elétrica num circuito elétrico com resistências em série ou paralelas, num processo catenário, onde cada catenário funciona como um circuito elétrico e, de acordo com as leis básicas da eletricidade, os componentes em série (na raiz e no caule, por exemplo) reduzem a condutância do sistema (Figura 1) e, quando em paralelo (nas diferentes folhas, por exemplo [Tyree, 1997]), as suas condutâncias são aditivas (Steudle & Peterson, 1998).

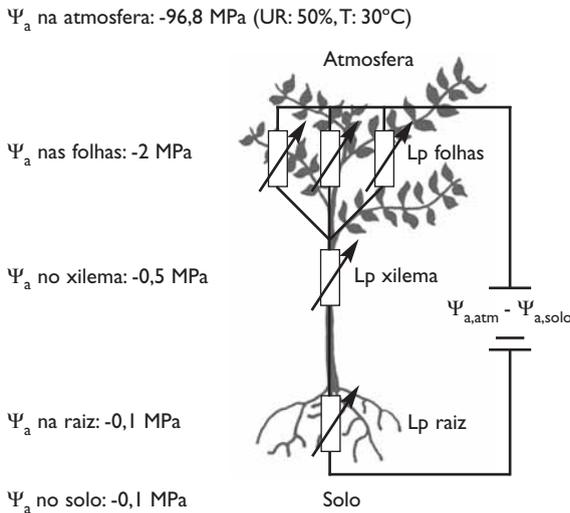


Figura 1 • Catenário e valores de Ψ_a e controle da L_p (condutância hidráulica no sistema solo-água-planta

Lembrando que a condutância (g ou L_p) é o inverso da resistência (R), $g = 1 / R$. Para a análise de fluxos na planta, e dela com o meio, atualmente, se usa unidades de condutância da água (Tsuda & Tyree, 2000), nas diferentes partes do SSPA, em vez das unidades tradicionais de resistência (Slatyer, 1967; Sutcliffe, 1971; Winter, 1976). Isto porque, freqüentemente, depara-se com valores de condutância nula, como quando os estômatos estão fechados, e se os fluxos de H_2O e de CO_2 na planta fossem analisados em função da resistência à passagem destes, como se fazia até a década de 80, ter-se-ia freqüentemente valores próximos de infinito ($1/0 = \infty$), o que dificulta os cálculos e a expressão dos resultados. Outrossim, a ascensão de água na planta ainda é explicada pela teoria da coesão-adesão da água, apesar das críticas feitas recentemente (Zimmerman *et al.*, 1994), mas que não foram comprovadas (Tyree, 1997; Steudle, 2001).

Deve ser ressaltado que, anteriormente, achava-se que, no SSPA, o único ponto de controle do transporte de água era pela modulação da condutância estomática (g_s), e que a L_p da raiz e do xilema eram constantes. Porém, hoje se sabe que tanto a L_p da raiz como do xilema podem ser moduladas pela planta (Figura 1), como será discutido a seguir, dependendo do DPV do ar e da disponibilidade de água no solo (Steudle, 1994, 2000, 2001; Hartung *et al.*, 2002)

3.2 • O TRANSPORTE DA ÁGUA NO SSPA

A difusão é um processo espontâneo de movimento de uma substância, no estado líquido ou gasoso, de um local para outro adjacente, onde a atividade da substância em questão é menor (Nobel, 1999). Em 1855, Adolph Fick foi o primeiro pesquisador a examinar quantitativamente o processo de difusão, com base na diferença de concentração da substância, que resultou na equação da densidade de fluxo, em função da força motriz, que no caso é o gradiente de concentração (o termo $RT \ln a_i$, da equação 1.23, para determinar-se o μ_i) entre os dois locais, a chamada 1ª lei de Fick (Kramer & Boyer, 1995):

$$J_i = -D_i \delta c_i / \delta x \quad (\text{eq. 3.1})$$

onde J_i é a densidade do fluxo da substância i , c_i é a concentração da substância i , x é a direção do fluxo e D_i é o coeficiente de difusão da espécie i .

Em 1856, Henri Darcy reconheceu que o fluxo de água no solo era função do gradiente de pressão hidrostática (neste caso, o termo $P \nabla_a$, da equação 1.27, para determinar-se o μ_a), cuja equação ficou conhecida, segundo Nobel (1999), como lei de Darcy:

$$J_v = -L_{p_{\text{solo}}} \partial P_{\text{solo}} / \partial x \quad (\text{eq. 3.2})$$

onde J_v é o volume da solução que atravessa a unidade de área estudada por unidade de tempo, $L_{p_{\text{solo}}}$ é o coeficiente de condutividade hidráulica do solo e P_{solo} é a pressão hidrostática do solo.

Para descrever quantitativamente o movimento de fluidos no xilema, Gotthilf Hagen, em 1839 e, independentemente, Jan Poiseuille, em 1850, determinaram uma equação para tubos cilíndricos, também em função do gradiente de pressão hidrostática (neste caso, também é o termo $P \nabla_a$, da equação 1.27, para determinar-se o μ_a), conhecida como lei de Poiseuille, segundo Nobel (1999), cuja equação é:

$$J_v = -r^2 / 8\eta \partial P_{\text{solo}} / \partial x \quad (\text{eq. 3.3})$$

onde J_v é o volume da solução que passa pelo cilindro por unidade de tempo, r é o raio do cilindro e η é a viscosidade da solução. Esta equação prevê que o fluxo de água, nos poros do solo, se daria como em cilindros alinhados na direção do fluxo e, no xilema, o fluxo de água se daria em lâminas ou camadas, sem turbulência. Atualmente se sabe não ser esta a realidade para o fluxo de água tanto no solo como no xilema, e, portanto, esta equação 3.3 não é mais muito usada, pois os valores de densidade de fluxo obtidos pela equação são muito diferentes dos reais valores, medidos com os equipamentos modernos, que não existiam antigamente (Nobel, 1999). Outrossim, hoje sabe-se que a L_p da raiz e do xilema são variáveis (Steudle, 1994; 2000), e não estáticas como se pensava, em função do Ψ_a do solo e da atmosfera, da via de absorção de água na raiz, da atividade das aquaporinas, da tensão de água no xilema e da sua composição, entre outros fatores (Rieger & Litvin, 1999; Barrowclough *et al.*, 2000; Zwieniecki *et al.*, 2001; Javot & Maurel, 2002).

Na célula, para a maioria dos vegetais, o transporte de solutos, de fora para dentro da célula, através da plasmalema, ocorre em conjunto com o transporte da água. Porém, para os solutos há gasto de energia metabólica no processo (direta ou indiretamente) para gerar o gradiente eletroquímico, que ativa os canais e bombas iônicas, e este transporte “ativo” é somado a uma fração negligenciável de transporte passivo desses solutos, e, portanto, o transporte de solutos é independente do movimento de água (Hose *et al.*, 2001). Por isso, a condutividade hidráulica da plasmalema é considerada

quase que exclusiva para a água, com pequeno efeito sobre o transporte de solutos, e a densidade de fluxo de água (J_v) pode ser descrita, segundo Kramer & Boyer, (1995), pela equação:

$$J_v = L_p (\Delta\Psi_a) \quad (\text{eq. 3.4})$$

onde L_p é a condutividade hidráulica da célula ou do tecido vegetal em estudo, que é variável segundo a intensidade de transpiração (Steudle & Henzler, 1995; Zwieniecki & Holbrook, 2000; Cochard et al, 2002), e $\Delta\Psi_a$ é a diferença de potencial de água entre as duas fases em estudo.

Para o movimento da água no sistema solo-planta-atmosfera, o principal processo, que gera os gradientes, é a transpiração, pois o maior gradiente possível de Ψ_a no SSPA é o que existe entre a folha e a atmosfera, visto que na atmosfera, a água está no estado gasoso, podendo ocupar um menor volume que no estado líquido ou sólido (não há formação de pontes de H^+ no estado gasoso) e ocorre variação da pressão saturante de vapor d'água em função da temperatura ambiente (Angelocci, 2002). Por isto, a atmosfera pode ter os menores valores de Ψ_a deste sistema (vide Capítulo 2 e os valores apresentados na Tabela 1). Com a perda de água da planta para a atmosfera, há uma redução do Ψ_a da planta, que se torna mais negativo que o do solo, criando um gradiente para que haja o fluxo de água do solo para as raízes (Figura 1). Neste circuito, o principal ponto de controle do fluxo se situa ao nível dos estômatos, que respondem às variações do Ψ_a tanto do solo quanto da atmosfera (Aphalo & Jarvis, 1991), mas a L_p da raiz e do xilema também são alterados, em função destes valores de Ψ_a (Steudle, 2000; Hartung *et al.*, 2002). Portanto, a planta pode sofrer uma deficiência hídrica causada pela atmosfera (quando o DPV é alto) ou pelo solo, quando há falta d'água, e ambas causam fechamento estomático (Schulze, 1986). Em última instância, a umidade relativa do ar, e mais precisamente o DPV do ar, controlam a transpiração, que por sua vez controla a absorção de água pela raiz (Frensch, 1997). Tendo em vista que, em clima tropical, existe um período longo do ano com baixa precipitação e temperaturas não muito baixas e, conseqüentemente, o DPV do ar é alto, as taxas de transpiração nesse período são bastante altas.

Assim, a limitação ao fluxo de água no SSPA se situa ao nível da absorção da água pelo sistema radicular, pois o gradiente de Ψ_a , entre o solo e a raiz, e a condutividade radicular máxima (a água está no estado líquido) são bem menores que o gradiente e condutividade máximos entre a planta e a atmosfera (a água está no estado gasoso) (Kramer & Boyer, 1995). Por isso, mesmo em condições irrigadas, se a umidade relativa do ar for baixa,

sobretudo nas horas mais quentes do dia, pode ser necessário diminuir a abertura dos estômatos, reduzindo a condutividade estomática (g_s) e, por conseqüência, o fluxo de água da planta para a atmosfera, isso para não haver desidratação do vegetal, pois o fluxo de água do solo para a planta seria menor que o da planta para a atmosfera (Tardieu & Simonneau, 1998). Porém, com a diminuição de g_s , o fluxo de CO_2 para o interior da folha é reduzido, afetando a fotossíntese e a acumulação de massa seca (Chaves, 1991).

Por outro lado, durante a noite, as temperaturas mais baixas fazem reduzir o DPV da atmosfera e, assim, o fluxo de água da planta para a atmosfera (transpiração) é o mais baixo do dia, permitindo a máxima hidratação da planta (Winter, 1976; Nobel, 1999). Pode-se dizer que as maiores taxas de crescimento vegetal ocorrem à noite, pois a turgescência é máxima; e, por exemplo, para se estudar a respiração de crescimento, as medições devem ser feitas de madrugada, quando o conteúdo em água da planta e a turgescência são os mais altos, associados às temperaturas mais baixas do dia, que fazem com que a respiração de manutenção seja menor, e a de crescimento pode ser alta.

3.3 • A RAIZ EM RELAÇÃO À ÁGUA

O sistema radicular tem uma importância capital para a planta, pois é o órgão responsável pela absorção de água e de nutrientes, assim como para a ancoragem do vegetal no solo. Além disso, o sistema radicular também sintetiza fitormônios essenciais para a parte aérea, principalmente na sua região meristemática, como é o caso das citocininas, das giberelinas e do ácido abscísico (ABA). Os fitormônios sintetizados na raiz são responsáveis, em parte, pela modulação, junto com outros fitormônios e fatores ambientais, do controle de uma série de eventos fisiológicos na parte aérea, tais como o controle da abertura estomática, que regula a transpiração, a atividade fotossintética, o crescimento celular e o direcionamento dos fotoassimilados, produzidos nas folhas, para os diferentes drenos, incluindo a própria raiz (Kramer & Boyer, 1995). O sistema radicular pode servir, também, como dreno de reserva de carboidratos, como no caso da mandioca, cenoura etc. Este acúmulo de carboidratos nas raízes permite aos vegetais, em zona semi-árida, enfrentar os períodos de seca, o que é comum na flora do Nordeste do Brasil; e a seleção de plantas com maior teor de carboidratos nas raízes confere maior tolerância à seca ao dendezeiro (Adjahoussou & Vieira da Silva, 1978) e no algodoeiro (Souza & Vieira da Silva, 1992).

A raiz, em uma seção transversal (Figura 2), é composta por diferentes tipos de tecidos (Esau, 1974): a rizoderme, com os pêlos radiculares se desenvolvendo a partir de suas células (o que aumenta enormemente a área e o volume de absorção de água e de nutrientes); a hipoderme com ou sem a exoderme que, quando existente (a exoderme pode se diferenciar somente nas raízes mais velhas, e não existir em raízes jovens), forma bandas de Cáspari, como a endoderme, e que pode ser uma barreira, mas não impermeável (Sattelmacher, 2001; Hartung *et al.*, 2002) para o movimento radial da água e de íons, nos dois sentidos (Hose *et al.*, 2001); o córtex, com grandes espaços intercelulares, por onde a água e íons têm livre movimento; a endoderme, com as bandas de Cáspari, que parecem ser mais lignificadas que suberizadas (a lignina é mais hidrofílica que a suberina), ao contrário do que se pensava anteriormente, e que, envolvendo as células da endoderme, tornam os espaços intercelulares da endoderme menos permeáveis aos íons e à água (Steudle & Henzler, 1995); e, finalmente, o cilindro central, onde estão os vasos condutores, o xilema e o floema.

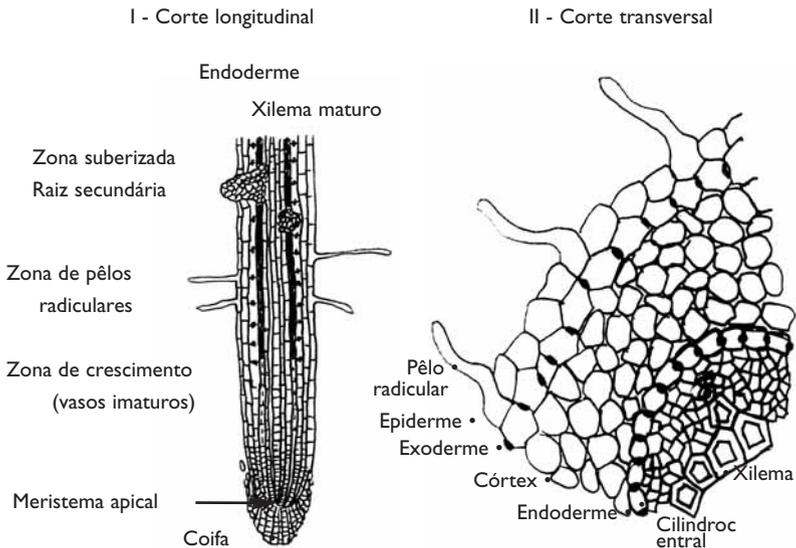


Figura 2 • I) Corte longitudinal de raiz, mostrando as três principais zonas de absorção de água e II) Corte transversal da raiz, mostrando os principais tecidos

A endoderme, com suas bandas de Cáspari, que se acreditava ser impermeável ao fluxo da água e de íons, não é mais considerada a maior barreira à passagem da água, e não é responsável pela baixa condutividade ao fluxo de água na raiz (L_p), pois esta se distribui pelo córtex, desde a exoderme até a endoderme (Frensch, 1997; Steudle & Peterson, 1998). Além disso, a exoderme, quando existente, também forma bandas de Cáspari, e pode ser considerada uma barreira importante para a perda de água e íons, para a solução do solo, o que não era discutido nos estudos mais antigos (Blum, 1997; Rieger & Livtin, 1999; Zeier *et al.*, 1999). Contudo, sob condições de alta transpiração, nas horas do dia de maior temperatura e DPV no ar, o fluxo de água, íons e ABA é aumentado, pela passagem destes compostos através da parede da endoderme, em um fluxo apoplástico (aumentando a L_p da raiz), desde a raiz até a câmara subestomática (Sattelmacher, 2001; Hose *et al.*, 2001; e Hartung *et al.*, 2002).

Portanto, a exoderme e a endoderme diminuem o refluxo de íons acumulados no cilindro central e no córtex, dificultando a sua perda para a solução do solo. Acredita-se que a condutividade hidráulica seja distribuída por todas as células da raiz desde a exoderme (quando existente), em vez de se concentrar somente na endoderme, como se pensava anteriormente (Freundl *et al.*, 1998; Steudle & Peterson, 1998). Espécies com raízes mais finas ou com córtex com menor número de células têm maior L_p , e a extensão longitudinal do córtex parece ser mais determinante para a L_p que o diâmetro da raiz. Além disto, o gradiente mínimo de Ψ_a , para gerar o fluxo de água, é mais de duas vezes superior em espécies possuindo a exoderme (laranja, aspargo e dendrobrium) que naquelas sem exoderme (pêssego e soja). Portanto, estas características morfológicas parecem causar, em parte, a variabilidade de propriedades hidráulicas existente entre as espécies (Steudle & Peterson, 1998; Rieger & Livtin, 1999).

Atualmente, acredita-se que a composição química da endoderme, e conseqüentemente a sua permeabilidade aos íons e à água, é variável, segundo seu desenvolvimento, e é diferente para mono ou dicotiledôneas. A composição das bandas de Cáspari da endoderme não é simples, e só atualmente vem sendo estudada, sendo provavelmente composta por lignina (em quantidades consideráveis, segundo Steudle, 2000), suberina, celulose e proteínas de parede celular (Zeier & Schreiber, 1999; Wu *et al.*, 2003). Segundo Zeier & Schreiber (1999), as partes jovens das raízes de dicotiledôneas, mais próximas à coifa, apresentam a endoderme no seu estágio I de desenvolvimento, caracterizado por um

baixo conteúdo de suberina e lignina e alto conteúdo de carboidratos e proteínas. Já as partes mais afastadas e mais velhas (80% das raízes estudadas) se encontram no estágio II, inexistente em monocotiledôneas, caracterizado por alta deposição de suberina. As monocotiledôneas não apresentam este estágio II e passam a um estágio III, com grande deposição de lignina. Portanto, as monocotiledôneas podem ser caracterizadas por ter uma alta L_{p_r} , sendo que essa deposição de lignina aumenta a estabilidade mecânica destas células; já as dicotiledôneas podem ser caracterizadas como tendo maior deposição de suberina e, conseqüentemente, tendo menor L_{p_r} , pois a endoderme funciona como uma barreira mais significativa ao movimento de íons e água que nas monocotiledôneas. Contudo, hoje se sabe que há dois tipos de suberina, uma alifática e outra aromática. A primeira é mais hidrofóbica e a segunda é um polímero fenólico, como a lignina, esterificado com o ácido hidróxicinâmico, que é mais hidrofílico, como a lignina (Zeier & Schreiber, 1999; Steudle, 2000).

Portanto, para discutir-se o fluxo de água na raiz, deve-se salientar também, como dito acima, que a endoderme não é mais considerada uma barreira à passagem da água, e não tem sempre a menor condutividade para o fluxo de água na raiz (Frensch, 1997; Steudle & Peterson, 1998).

Quanto à exoderme (hipoderme com bandas de Cáspari), ela sempre foi pouco estudada e suas funções menos conhecidas (Zeier & Schreiber, 1999). Quando existente, ela se desenvolve depois da endoderme, a partir da hipoderme (Sattelmacher, 2001). A grande maioria das angiospermas possui exoderme suberizada, que apresenta, como a endoderme, três estádios de formação, e tem plasmodesmata na mesma frequência da endoderme, sugerindo que o transporte simplástico em ambas é semelhante. A exoderme representa uma barreira protetora, do apoplasto do córtex para o solo, e pode ter condutividade variável para o fluxo de água e solutos, contribuindo substancialmente para a L_{p_r} (Rieger & Litvin, 1999; Hose *et al.*, 2001). Em raízes maduras, a endoderme pode ser a maior barreira limitante ao fluxo de água, principalmente sob baixas taxas de transpiração (Hose *et al.*, 2001; Hartung *et al.*, 2002), e a exoderme, quando existente, pode causar uma diminuição substancial do fluxo de água (Rieger & Litvin, 1999; Barrowclough *et al.*, 2000), e pode prevenir a desidratação da raiz, quando o Ψ_a do solo é muito negativo (Sattelmacher, 2001).

Durante o desenvolvimento da raiz, a seletividade da exoderme pode mudar, como a da endoderme, e ela pode ter uma função crucial em manter o ABA no apoplasto do córtex que, por sua vez, sob aumento do fluxo de água, devido à alta transpiração, passa do simplasto para o apoplasto, causando aumento da L_{p_r} , e é carreado, no apoplasto, pelo fluxo de água, através da parede celular da endoderme, para o cilindro central e xilema. Assim, sob alta transpiração o conteúdo de ABA no xilema se mantém o mesmo ou aumenta (Hartung *et al.*, 2002).

Tanto na exoderme como na endoderme, podem existir células de passagem, com bandas de Cáspari, mas menos suberizada, podendo permitir a passagem de solutos e água. Em *Agave desertii*, uma xerófita, a L_{p_i} diminui com o dessecamento do solo, devido a um aumento da suberização na exoderme e na endoderme (Hose *et al.*, 2001). Em arroz irrigado, a exoderme serve como proteção para evitar a perda de O_2 do córtex para o solo inundado, mas a suberização da exoderme para evitar esta perda de O_2 diminui também a passagem de água, podendo ocorrer deficiência hídrica no arroz irrigado, quando há alto DPV na atmosfera (Hose *et al.*, 2001). Por outro lado, a exoderme, quando existente, pode ser mais suberizada, quando a raiz é submetida à deficiência hídrica, impedindo o fluxo de água do córtex para o solo, e as células de passagem destas células são fechadas à passagem de água (Steudle, 2001). A água é uma molécula pequena que pode passar, sob alta disponibilidade de água, através das bandas de Cáspari da exoderme e da endoderme, junto com solutos, como íons, ABA e mesmo PEG (Hose *et al.*, 2001), conforme a Figura 3. Contudo, o maior fluxo de solutos e água se dá pela plasmalema da endoderme, no transporte simplástico, o que permite uma seletividade (Steudle & Henzier, 1995). Porém, com o aumento da transpiração, aumenta a densidade de fluxo radial de água, e este fluxo é compartilhado entre a via simplástica e a apoplástica (discutidas abaixo), sendo esta última aumentada para compensar a perda de água pela transpiração (Hartung *et al.*, 2002). O aumento do fluxo de água pela via apoplástica diminui a L_{p_r} , e, a exemplo do ABA, os solutos dissolvidos podem passar pela parede nas bandas de Cáspari, por arraste do solvente, a água (Sattelmacher, 2001). Dentre estes solutos, o Ca^{+2} , o PEG 1000, o ABA e citocininas apoplásticas podem atravessar as bandas de Cáspari (fluxo apoplástico até o cilindro central), aumentando ou mantendo a sua concentração no xilema quando aumenta a transpiração, o que pode ser benéfico, como o transporte de maior quantidade de ABA, para causar o fechamento dos estômatos na parte aérea (Hose *et al.*, 2001; Hartung *et al.*, 2002).

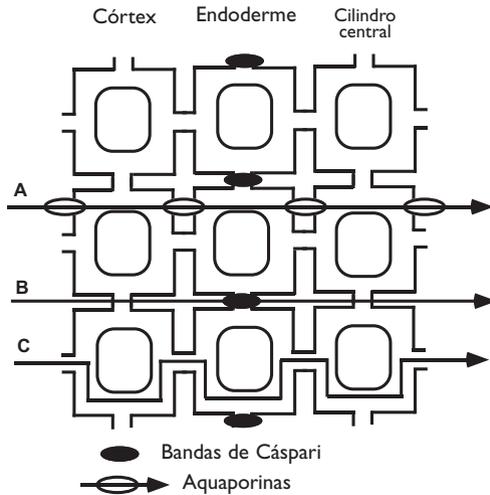


Figura 3 • As três vias de transporte de água na raiz: **A)** via transcelular (célula a célula) pelas aquaporinas; **B)** via apoplástica (atravessando a endoderme e as bandas de Cáspari); e **C)** via simplástica (célula a célula)

Portanto, houve uma mudança no conceito sobre o fluxo de água, sob condições de alta transpiração e de dessecação do solo, tendo em vista os estudos mais recentes sobre a composição da exoderme e na endoderme, assim como sobre as aquaporinas. Nas horas do dia de maior temperatura e DPV no ar, o fluxo de água, íons e ABA é aumentado pela passagem destes compostos através da parede da endoderme, no transporte apoplástico, desde a raiz até a câmara subestomática (Sattelmacher, 2001; Hose *et al.*, 2001; Hartung *et al.*, 2002). Dessa forma, a L_{p_r} pode variar em função do maior ou menor fluxo transpiratório (Tsuda & Tyree, 2000), do grau de dessecação do solo, pelo bombeamento via aquaporinas (Javot & Maurel, 2002), ou da maturidade do tecido radicular, especialmente da exoderme, quando existente (Barrowclough *et al.*, 2000). Quando a taxa de transpiração é alta, a L_{p_r} aumenta devido ao maior transporte apoplástico (Hartung *et al.*, 2002) e/ou pela ativação das aquaporinas, dependente de energia produzida na respiração, no transporte trancelular (Javot & Maurel, 2002); e quando a taxa de transpiração é baixa, a L_{p_r} diminui, ocorrendo principalmente o transporte célula a célula simplástico (Tsuda & Tyree, 2000).

Já em uma seção longitudinal, a raiz é composta pela coifa, que é um tecido esclerosado protegendo a ponta da raiz e que serve como proteção durante a penetração no solo; a região meristemática da raiz, protegida pela coifa, que promove o seu crescimento; em seguida há uma pequena zona onde os vasos condutores ainda não se diferenciaram e, por isso, as condutâncias hidráulicas, radial e axial, são semelhantes; acima desta, a outra zona, onde a endoderme e os vasos condutores já se diferenciaram, que é a dos pêlos radiculares, e que fica, em gramíneas, a alguns centímetros do ápex radicular; e, por último, uma zona mais suberizada, com menos pêlos radiculares quanto mais afastada do ápex radicular, onde o movimento de água transcelular, via aquaporinas, pode controlar a densidade do fluxo de água pelas raízes, sobretudo quando o solo está desidratado (Maurel, 1997; Steudle, 2001). Além disso, as raízes produzem um mucigel que influencia o contato com o solo e a absorção de água e nutrientes (McCully, 1995).

A água, além do transporte no sentido transversal, pode se movimentar no sentido longitudinal da raiz até o coleto da planta, sem passar para o xilema; porém, o principal fluxo de água para a parte aérea se dá pelo xilema. Anteriormente, acreditava-se que a principal zona de absorção de água e nutrientes fosse próxima ao ápex, onde a endoderme e os vasos condutores ainda não se diferenciaram, mas esta é uma zona de acumulação de nutrientes, o que levou a essas conclusões errôneas (Steudle & Peterson, 1998). A principal região de absorção de água e de nutrientes fica na zona onde a endoderme e os vasos condutores já se diferenciaram, e na zona dos pêlos radiculares, mais afastada do ápex radicular (Marchner, 1995). Hoje se sabe que, sob boa disponibilidade de água no solo, a zona de absorção de água se estende até 20 a 30cm da coifa e que 80% da água absorvida pela raiz entra pelas raízes secundárias, que têm xilema bem desenvolvido e pêlos radiculares, além do que a mucilagem, produzida por estas raízes, aumenta o contato com o solo na rizosfera, facilitando a absorção de água e nutrientes (McCully, 1995). A zona onde os pêlos radiculares são menos freqüentes, que tem a epiderme mais suberizada (com o movimento de água controlado pelas aquaporinas), também tem uma grande importância na absorção de água e de nutrientes, como o fósforo, pois o volume e a superfície desta zona mais suberizada é muito maior que o da zona não suberizada (sem contar a superfície dos pêlos radiculares). Nesta zona suberizada, a absorção de água ocorre principalmente sob baixa disponibilidade de água no solo, via aquaporinas (Javot & Maurel, 2002).

Além do aumento da superfície radicular promovido pelos pêlos radiculares, vários tipos de plantas são invadidos por fungos, que formam uma associação simbiótica chamada de micorriza, o que promove uma extensão da área e do volume radiculares. Esses fungos podem promover a mineralização e solubilização do fósforo e, em alguns casos, uma maior absorção de água (Kramer & Boyer, 1995).

A quantidade de água absorvida pelo vegetal depende diretamente do volume de solo ocupado, da profusão de ramificações e de pêlos do sistema radicular (McCully, 1995), assim como das associações micorrízicas. Plantas de sistema radicular profundo, que exploram as camadas de solo mais próximas do lençol freático, são, em geral, mais adaptadas à seca que plantas com sistema radicular superficial. Segundo Milburn (1979), as xerófitas de desertos podem ter a parte aérea pequena e as raízes atingindo grandes profundidades (*Alhagi*: 25m de profundidade; *Glycyrrhiza*: 15m; *Prosopis*: 20m e *Andina* [Brasil]: 19m) ou grande raio (*Tamarix*: 40m de raio e *Larrea*: 27m), para aumentar a captação de água.

Assim sendo, quando há alta disponibilidade de água no solo e o DPV do ar é baixo (baixa taxa de transpiração), o maior fluxo de água ocorre na zona dos pêlos radiculares, pelo transporte célula a célula simplástico, e a menor espessura da raiz, assim como a inexistência da exoderme, aumenta a sua L_p (Rieger & Litvin, 1999). Quando o DPV é alto (alta taxa de transpiração), o transporte de água passa a ser principalmente apoplástico, o que aumenta a L_p (Hartung *et al.*, 2002). Porém, sob desidratação do solo, a zona suberizada das raízes, acima da zona de pêlos radiculares, passa a ter maior importância na absorção de água (Steudle, 2001), com o transporte de água célula a célula transmembranar, pela ativação das aquaporinas (Javot & Maurel, 2002).

Como foi dito anteriormente, as taxas de transpiração de um vegetal de clima tropical são em geral superiores, principalmente nas horas mais quentes do dia, às taxas de absorção de água. Por isto, apesar do sistema radicular não ser um órgão colhido na maioria das culturas e o seu maior desenvolvimento diminuir o índice de colheita (massa seca colhida x massa seca total da planta⁻¹ x 100%) e a produtividade, a seleção de plantas com o sistema radicular mais eficiente na captação de água é de grande importância para a agricultura tropical, sem irrigação. As características de profundidade, volume, área superficial, longevidade e condutância hidráulica da raiz, entre outras, trazem aumento de produtividade, principalmente para uma agricultura tropical de baixo custo tecnológico (Duncan & Baligar, 1991). O

sistema radicular com maiores superfície de absorção e eficiência na aquisição de água é uma característica desejável para manter a estabilidade de produção, principalmente em épocas de baixa precipitação (Arnon, 1975).

Muitos autores têm sugerido também que o sistema radicular funciona como um sensor primário da deficiência hídrica devido à diminuição do conteúdo de água do solo. Com o dessecamento deste, ocorrem mudanças no metabolismo radicular, tais como a diminuição da síntese de citocininas, aumento da síntese de ABA e distúrbios no metabolismo do nitrogênio, e os produtos dessas mudanças são exportados, via xilema, para a parte aérea, onde causarão mudanças no metabolismo, antes mesmo de ocorrer variação no conteúdo de água das folhas (Davies *et al.*, 1990). A variação do conteúdo de água do solo também causa mudanças na condutividade hidráulica da raiz (L_p_r) e, conseqüentemente, no gradiente longitudinal de pressão hidráulica entre a raiz e a parte aérea, que também interfere na atividade fisiológica da parte aérea (Tyree, 1997). Estes componentes hidráulicos também são considerados como sinais entre a raiz e a parte aérea. Portanto, esses sinais, químicos e físicos (fitormônios, compostos orgânicos e alterações da L_p_r e do gradiente de Ψ_a), funcionam como mensageiros primários entre a raiz e a parte aérea, para indução de mudanças fisiológicas, complexas e interativas, da parte aérea, tais como a redução do crescimento, fechamento estomático para redução da transpiração, e aumento ou redução da atividade fotossintética (Frensch & Hsiao, 1994).

A propagação das mudanças na condutividade hidráulica de plântulas de milho, medida em raízes com mais de 500mm de comprimento, ocorre em frações de segundo ao longo dessas raízes (Frensch, 1997). A raiz, no SSPA, apresenta baixa condutância ao fluxo de água, e as propriedades hidráulicas das raízes podem ser descritas por dois parâmetros: a sua L_p_r , que é a relação entre a densidade do fluxo e o gradiente de Ψ_a e o valor do gradiente mínimo de Ψ_a requerido para induzir o movimento de água (Passioura, 1988; Rieger & Livtin, 1999). O componente radial, mais do que o axial, do movimento de água na raiz limita a absorção de água pela raiz e próximo da coifa da raiz, onde os vasos condutores ainda não se diferenciaram, ambos os componentes, radial e axial, devem ser levados em conta (Steudle, 2001).

Para a análise do balanço e do fluxo de água na planta, o componente de entrada de água pela raiz é tão importante quanto o de perdas de água pela parte aérea. Contudo, o conhecimento sobre o processo de

entrada é menor que aquele sobre as perdas, pois ao contrário da parte aérea, a arquitetura da raiz no solo é de muito mais difícil acesso. A morfologia e a anatomia da raiz devem ser levadas em conta e, além disso, existem interações entre os solutos (nutrientes) e a água, isto é, os processos osmóticos, que influenciam o fluxo de água, além do movimento puramente hidráulico (Kramer & Boyer, 1995).

As raízes não são simplesmente “máquinas hidráulicas”, como no sistema hidráulico de uma casa. Os processos osmóticos, onde existe o transporte ativo de solutos pelos canais e bombas iônicas, e as interações com as paredes celulares complicam a análise do fluxo radicular. Por outro lado, a planta também não funciona como um osmômetro ideal (em analogia com uma célula e seu vacúolo), pois ocorre passagem de água e solutos (nutrientes e solutos de teste) no apoplasto, do córtex até o cilindro central, mesmo com a presença das bandas de Cáspari e a suberização da endoderme e da exoderme, podendo essas estruturas impedir o movimento de certos íons, dependendo da sua polaridade (Steudle, 2001). Além disso, com a falta de água no solo, o transporte transcelular, via aquaporinas, com gasto de energia proveniente da respiração radicular, é ativado (Javot & Maurel, 2002), o que complica mais a análise do fluxo de água nas raízes (Steudle, 2000). O transporte de água, via aquaporinas, é muito mais rápido que o de íons, por exemplo (Passioura, 1988).

Por exemplo, no cálculo da densidade do fluxo de água pela equação de Poiseuille, utilizada anteriormente para descrever a velocidade do movimento de água num tubo capilar “como o xilema” (quando ainda não existiam instrumentos de medição de densidade de fluxo), tem-se valores maiores que aqueles medidos (Nobel, 1999). Isto ocorre porque, apesar do xilema ser composto por células sem citoplasma, existem interações da água com a parede celular e com os poros entre as células dos vasos do xilema (“pits”), que causam variações na L_p do xilema e, portanto, alteram o fluxo de água neste (Tyree, 1997). Além disso, existem hidrogéis no interior do xilema, formados por pectinas, que interferem com a L_p do xilema (Zwieniecki *et al.*, 2001).

Outro conceito que sofreu modificações recentes é o do apoplasto e simplasto da raiz, inicialmente proposto por Münch em 1930, que caracterizava o apoplasto como sendo o compartimento que inclui as paredes celulares e os espaços intercelulares da raiz até a endoderme, que era considerada impermeável à água, e o simplasto como sendo o contínuo de citoplasmas interconectados pelos plasmodesmos, até o cilindro central,

sendo então considerado o único meio da água atravessar a endoderme. Ele ainda pode ser aceitável para descrever o movimento de alguns íons em raízes, sob baixas taxas de transpiração, porém é insuficiente para a descrição do movimento de água nestas. A principal razão para isto é que a água, como dito anteriormente, se move pelo apoplasto até os vasos condutores, quando a transpiração é alta, atravessando também as bandas de Cáspari da endoderme, que não é mais considerada impermeável à água, mas tem menor condutividade hidráulica (Rieger & Litvin, 1999), e a íons (Sattelmacher, 2001). Atualmente, o apoplasto de um vegetal é considerado como sendo todos os compartimentos do vegetal exteriores à plasmalema celular, e os seus limites são o rizoplano da rizoderme da raiz e a cutícula da epiderme da folha, incluindo o córtex, a endoderme, e o cilindro central da raiz, além do xilema e do mesófilo foliar. Isso muda consideravelmente os conceitos da nutrição mineral, principalmente, sob altas taxas de transpiração (Sattelmacher, 2001).

Outra noção a ser ressaltada é a respeito da direção do fluxo de água na raiz, pois, apesar do fluxo principal se dar da solução do solo para a raiz, existe um pequeno fluxo de água da raiz para a solução do solo (Frensch, 1997; Hartung *et al.*, 2002). Nesse fluxo para fora da raiz, o ácido abscísico (ABA), na forma simples ou esterificado com glicídios (Hartung *et al.*, 2002), que é sintetizado principalmente no citosol das células corticais das raízes, move-se para a solução do solo; e, dependendo do pH e da sua concentração na solução do solo, assim como da taxa transpiratória, o ABA é retranslocado para a planta, via apoplasto radicular, atravessando a endoderme (que lhe é mais permeável em milho que em girassol) até o xilema, para ser transportado para a parte aérea. Portanto, o ABA existente na solução do solo tem uma grande importância na sinalização entre a raiz e a parte aérea, causando também variações na L_p , o que dificulta a quantificação de ABA na planta, para se avaliar a transdução de sinais de processos fisiológicos, como o fechamento estomático (Freundl *et al.*, 1998).

3.4 • O MOVIMENTO DA ÁGUA NA RAIZ

O movimento radial da água na raiz se dá por três vias: 1) a via apoplástica, pelos espaços intercelulares, da rizoderme até o xilema no cilindro central, passando pela endoderme, onde a passagem de água é dificultada, mas não impedida, e depois nos espaços intercelulares do cilindro central; 2) a via

simplástica, através da absorção da água pelas células da raiz, principalmente através dos pêlos radiculares, onde a água se movimenta pelo citoplasma, passando de uma célula para outra, via plasmodesmata, até o cilindro central, sendo carregada no xilema; e 3) a chamada via transcelular (ela substitui o antigo conceito da via transvacuolar), que também é simplástica, via aquaporinas, mas na qual a água atravessa a plasmalema de cada célula, em vez de passar pelo plasmodesmata, como na via simplástica (Rieger & Litvin, 1999; Steudle, 2000; Hose *et al.*, 2001; Javot & Maurel, 2002). Esta via transcelular não é considerada para o transporte de íons, pois a passagem de íons através da plasmalema é muito mais lenta do que a da água. As duas últimas vias, a simplástica e a transcelular, são chamadas de transporte célula a célula e não são discriminadas, pois não se pode, atualmente, medir e diferenciar o fluxo de água em cada uma delas (Steudle & Peterson, 1998). Por isso, se diz que o fluxo radial de água na raiz se dá por duas vias, a apoplástica e a de célula a célula (Frensch, 1997).

Este movimento de água nas raízes, no sentido radial, ocorre segundo um gradiente de Ψ_a entre o solo e o xilema no cilindro central, que por sua vez é afetado pelo gradiente entre a parte aérea e a atmosfera (Kramer & Boyer, 1995). Por isso, o gradiente de Ψ_a entre a raiz e o solo é modificado, segundo a planta transpire mais ou menos; e a perda de água da planta para a atmosfera gera uma tensão no xilema, a qual, segundo a teoria da coesão-tensão das moléculas de água (vide Capítulo 2), se transmite à raiz, reduzindo o Ψ_a no xilema e nos tecidos radiculares, para valores abaixo daquele do Ψ_a no solo, promovendo assim a passagem da água do solo para a raiz (Tyree, 1997).

O aumento da transpiração causa também um incremento da condutividade hidráulica da raiz (com o transporte apoplástico de água), devido ao aumento da tensão da água no xilema e na raiz (Steudle, 2001). O fluxo de água no xilema é governado principalmente pela pressão hidrostática, enquanto que, no fluxo radial da raiz, o gradiente de Ψ_a pode ter uma natureza hidrostática, osmótica ou mesmo matricial. Na ausência de transpiração durante a noite, por exemplo, com uma umidade relativa mais alta, devido à menor temperatura do ar, o gradiente osmótico domina, na chamada pressão radicular, gerando os fenômenos de gutação, exudação do xilema e de gomas em ferimentos (Kramer & Boyer, 1995). A maior ou menor importância do componente hidrostático ou osmótico, no movimento radial de água, varia com a espécie. Em árvores o componente hidrostático é de uma a três vezes superior ao componente osmótico, enquanto que não há diferenças entre estes componentes em feijão e cevada (Frensch, 1997). O

componente hidrostático também pode causar variação da densidade de fluxo em até três vezes, segundo a espécie e as condições ambientais (Steudle, 2001). Em plantas sob alta taxa transpiratória, o gradiente de pressão hidrostática entre o solo e xilema é grande e a Lp_r é alta, o que facilita a absorção de água, pela via apoplástica, quando aumenta a demanda. Quando a transpiração é baixa, a Lp_r diminui, a planta fica protegida de perdas excessivas de água e, nesse caso, o componente osmótico, nas vias de célula a célula, tem maior importância para o fluxo de água na planta (Steudle & Peterson, 1998).

3.5 • O XILEMA E O TRANSPORTE DE ÁGUA

Os vegetais vasculares desenvolveram dois tipos de células para o movimento de água e solutos entre diferentes órgãos: as células do floema e as células do xilema. Em ambos os tipos de célula há uma perda do protoplasma, o que diminui a resistência ao fluxo de água, e no floema há também uma perda parcial ou total da parede celular entre células adjacentes. Neste sistema, o transporte de água para a parte aérea se dá principalmente pelo xilema (Esau, 1974), cujas células tem parede celular secundária espessa e lignificada, o protoplasma desaparece com a sua maturação (protoxilema passando a metaxilema) e, em alguns casos, ocorre a desintegração de algumas paredes celulares e redução das paredes restantes, que passam a ter poros (“pits”) ligando as células adjacentes, o que diminui o número de paredes celulares a serem transpostas pela água (Nobel, 1999).

Dois tipos de células de condução de água podem existir no xilema: os elementos do vaso lenhoso, encontrados em angiospermas, e os traqueídeos, filogeneticamente mais primitivos, encontrados nas angiospermas, gimnospermas e plantas vasculares inferiores. Os traqueídeos são células fusiformes com paredes espessas e angulares, também contendo perfurações na parede entre dois traqueídeos. Já os elementos do vaso lenhoso são células menores e mais largas, com desintegração parcial ou total da parede transversal entre várias células-elementos, formando um vaso lenhoso que, por sua vez, no seu conjunto, forma o xilema (Esau, 1974). Ao lado destes dois tipos de vasos condutores, existem células de parênquima e células fibrosas. Estas últimas são células finas com parede lignificada e contribuem para suportar a estrutura da planta. Já as células vivas do parênquima no xilema são importantes para estocar carboidratos e para o movimento lateral de água e solutos para dentro e fora das células condutoras, que tanto nos traqueídeos como nos elementos do vaso possuem pontuações nas paredes longitudinais,

para o movimento lateral de solutos e água. O diâmetro dos elementos do xilema pode variar de 8 a 500 μm , e as células condutoras variam em comprimento de 1 a 10mm nos traqueídeos e de 0,2 a 3mm nos elementos do vaso, e cada vaso pode ter um comprimento que varia de 10mm a 10m (Stuedle & Peterson, 1998).

Devido à existência destas paredes perfuradas, e às vezes também da plasmalema, o transporte de água no xilema tem uma menor condutividade que um tubo, de mesmo diâmetro, sem essas paredes celulares dos elementos do vaso lenhoso. Esta menor condutividade não impede o fluxo de água para a parte aérea, sendo que a condutividade radial na raiz é mais importante (70 a 90% do controle do fluxo na planta) que a condutividade longitudinal (10 a 30% do controle), e a primeira é que controla a absorção de água (Stuedle & Peterson, 1998). Zwieniecki *et al.* (2001) sugerem que os poros entre os vasos lenhosos são alterados pelo intumescimento de pectinas, conhecidas como hidrogel, o que faz variar a condutividade hidráulica do vaso. A menor condutividade longitudinal no xilema, comparada a um tubo contínuo, diminui o fluxo de água, em condições de alta demanda transpiratória, impedindo a quebra da coluna de água. Por isso, deve-se ressaltar que devido a essa interrupção da continuidade do fluxo causada pela passagem da água através das plasmalemas e poros das paredes celulares entre as células dos vasos do xilema, o fluxo de água em tecidos vegetais frequentemente é bastante diferente dos valores calculados pela equação de Pouiseuille, usada para tubos capilares (Teare & Peet, 1983; Frensch, 1997; Nobel 1999). Segundo cálculos apresentados por Stuedle & Peterson (1998), um metaxilema de uma raiz de milho tem um diâmetro de 23 μm , e teria uma resistência hidráulica por metro de comprimento, segundo a equação de Pouiseuille, de $1,4 \times 10^{11}$ MPa s m⁻³. Porém medições *in situ* da condutividade hidráulica de membranas de células corticais, extrapoladas para apenas uma membrana celular do xilema, dariam uma resistência de $3,4 \times 10^{15}$ MPa s m⁻³, o que equivaleria a um cilindro sem membranas de 24km (Nobel, 1999).

A teoria da ascensão da água por capilaridade no xilema é baseada no fato da atração água-parede celular (força de adesão) ser considerável, quando comparada com a coesão entre as moléculas de água, ocorrendo assim a ascensão da água (num tubo de pequeno diâmetro), no processo chamado de capilaridade. Devido à força gravitacional, ocorre uma depressão do líquido no centro do tubo, com a formação de um menisco, com um ângulo de contato inclinado em relação à parede do tubo (α), que depende do raio do tubo (r) e do material do qual é feito o tubo, que vai gerar as forças de coesão-

tensão com as moléculas de água (um tubo de polietileno tem $\alpha = 94^\circ$ e de parafina tem $\alpha = 110^\circ$). A altura que um líquido ascende por capilaridade (h) depende da sua densidade (ρ), da força da gravidade (g) e da tensão superficial da parede do tubo (σ), e é calculada pela equação: $h = (2 \sigma \cos \alpha) / (r \rho g)$. Contudo essa força capilar pode ser suficiente para explicar a ascensão de água no xilema de plantas de pequeno porte mas, para que a água atinja o topo de uma árvore de 30m de altura, o raio do xilema deveria ser de no máximo 0,5mm, o que é um valor muito menor que o encontrado para estas árvores (Nobel, 1999).

A principal teoria para explicar a ascensão da água pelo xilema é a teoria da coesão-tensão da água, proposta no século passado. Recentemente, Balling & Zimmermann (1990), usando uma sonda de pressão no xilema, criticaram essa teoria para o transporte de água quando o Ψ_a é menor que -0,6 MPa. O problema com as medições do Ψ_a do xilema pela sonda de pressão é que a entrada da sonda no xilema sob tensão pode desequilibrar esta (Kramer & Boyer, 1995). Contudo, Tyree (1997), numa revisão baseada em vários estudos sobre a teoria da coesão-tensão e do uso da bomba de pressão, confirmou a validade da teoria da coesão-tensão, e das medições do Ψ_a do xilema com a bomba de pressão. Mais estudos são necessários antes que alguma conclusão definitiva possa ser tirada, porém, atualmente, a teoria da coesão-tensão é vista como a melhor explicação para a ascensão da água no xilema (Kramer & Boyer, 1995).

Segundo a teoria da coesão-tensão, a água ascende pelo xilema sob tensão, onde o Ψ_T do xilema é menor que a pressão parcial de vapor da água, e a força que governa o movimento da água no xilema é gerada pela tensão superficial na superfície de evaporação da água na folha, essencialmente na câmara subestomática. Essa tensão é transmitida pela contínua coluna de água no xilema, desde a folha até o ápice radicular, e através de todas as partes do apoplasto em todos os órgãos do vegetal, como num circuito elétrico, para o fluxo da corrente elétrica (Tyree, 1997). A energia para o processo de evaporação da água provém do sol, que aquece a folha. Quando a energia térmica da folha é maior que o calor de vaporização da água, o tecido vegetal cede energia térmica para a água líquida, rompendo as pontes de hidrogênio entre as moléculas de água líquida, promovendo a sua passagem do estado líquido para o estado gasoso (Kramer & Boyer, 1995). As pontes de hidrogênio da molécula da água são responsáveis pelo seu alto calor de vaporização, pelas forças de adesão entre as suas moléculas e pela tensão superficial com as paredes do xilema (vide Capítulo 2).

A tensão superficial criada nas paredes celulares no mesófilo ou na câmara subestomática (não se pode ainda estabelecer exatamente onde ocorre a evaporação da água), onde a água está se evaporando, provoca uma diminuição do Ψ_a das células vizinhas; esta diminuição do Ψ_a vai sendo transmitida de célula a célula até o xilema, promovendo o movimento da água do xilema para a região onde a água está se evaporando. A diminuição do Ψ_a se propaga através do xilema, até o sistema radicular, causando a passagem de água da raiz para o xilema, tornando o Ψ_a da raiz mais negativo, quando comparado ao valor deste no solo; e devido ao gradiente de Ψ_a criado entre a raiz e o solo, ocorre a passagem de água do solo para a raiz (Kramer & Boyer, 1995).

Quando o Ψ_T do xilema é negativo, devido a alta transpiração por exemplo, bolhas de ar podem ser aspiradas das paredes celulares para o interior do xilema ("air-seed"), causando o fenômeno de cavitação, ou seja, formação de bolhas de ar em cada célula do xilema, a exemplo do que ocorre com a água gelada despejada em um copo (Tyree, 1997). E, caso a bolha de ar se expanda, ocupando todo o lúmen do vaso, pode ocorrer embolismo (bolhas grandes o suficiente, com o diâmetro do vaso do xilema, para interromper o fluxo de água) e quebra da coluna de água, o que pode causar a perda da funcionalidade daquele xilema. Contudo, a coluna de água pode ser restabelecida, dependendo das tensões e da extensão do embolismo (Zwieniecki & Holbrook, 2000; Cochard *et al.*, 2002). Segundo Tyree (1997), estas bolhas de ar raramente são estáveis em xilemas mais jovens, onde os poros ("pits") nas paredes celulares, entre as células dos vasos do xilema, têm menos de 0,1mm. Devido à grande tensão gerada pela transpiração num tubo de pequeno diâmetro e a passagem da água e dos gases através das membranas das células do xilema nos poros, a bolha de ar é rompida em bolhas menores que são dissolvidas na água em movimento (Zwieniecki & Holbrook, 2000; Cochard *et al.*, 2002). Portanto, segundo estes autores, plantas que possuam paredes intercelulares no xilema bem desenvolvidas e robustas, com poros de pequeno diâmetro, suportam altas tensões no xilema, sem haver embolismo deste. Zwieniecki & Holbrook (2000) e Cochard *et al.* (2002) sugerem que o principal objetivo do fechamento estomático é evitar a cavitação e uma catastrófica falha do sistema de condução de água, em vez de simplesmente objetivar a redução das perdas de água pela transpiração.

Além disso, no xilema, mudanças na condutividade hidráulica ocorrem em resposta às variações na concentração de íons, pH e solventes apolares, que são mediados por hidrogéis existentes no interior do xilema,

formados por pectinas, cuja atividade é controlada pela planta, o que muda o antigo conceito de que o xilema é um “tubo inerte”, e sugere um mecanismo pelo qual as plantas controlam seu fluxo interno (Zwieniecki *et al.*, 2001). Estes fenômenos afetam a velocidade do fluxo de água no xilema, que portanto não pode ser considerado simplesmente pelo seu componente hidráulico, e fazem com que a condutividade hidráulica do xilema seja variável, em função do ambiente onde a planta se encontra (Steudle, 2001).

3.6 • A FOLHA EM RELAÇÃO À ÁGUA

A folha é resultado altamente refinado da evolução, pois não só é uma combinação de tecidos diferentes, com funções distintas atuando em conjunto, mas também com diferentes arranjos espaciais para caracterizar a forma da folha, que varia consideravelmente entre espécies e em função do ambiente. A maioria das plantas cultivadas é chamada de mesófitas, pois se desenvolve em um ambiente com abundante disponibilidade de água no solo e umidade do ar relativamente alta; aquelas que se desenvolvem em ambientes áridos são chamadas de xerófitas; aquelas que se desenvolvem em um meio aquático são hidrófitas (ou higrófitas); e aquelas que se desenvolvem melhor em ambientes salinos são chamadas de halófitas, enquanto as que não se desenvolvem bem nestes ambientes são glicófitas (Milburn, 1979).

A folha, em um corte transversal, é constituída de diferentes tecidos, segundo Esau (1974): a epiderme superior e inferior; o mesófilo, caracterizado pela abundância de cloroplastos e que se distingue em parênquima paliçádico, na face superior (dorsal ou adaxial) da folha, e parênquima lacunoso (ou esponjoso), na face inferior (ventral ou abaxial); e o sistema vascular, no plano mediano da lâmina foliar. A epiderme é caracterizada por um conjunto de células dispostas compactamente, com presença de cutícula e estômatos, que podem ocorrer em ambas as faces (com menor número na face superior) ou somente na face inferior. Em folhas de dicotiledôneas, os estômatos estão dispersos ao acaso e, nas monocotiledôneas, e coníferas, os estômatos se dispõem em fileiras paralelas ao eixo maior da folha. Os estômatos podem se localizar ao mesmo nível das células epidérmicas (nas mesófitas), acima da epiderme (nas hidrófitas), ou em depressões, abaixo da epiderme (nas xerófitas) (Raven *et al.*, 2001). A cutícula é uma camada, maior ou menor segundo as espécies, de material graxo, a cutina, mais ou menos impermeável à água, na parede externa da epiderme, e pode ser composta de várias placas delgadas (Figura 4), cuja principal

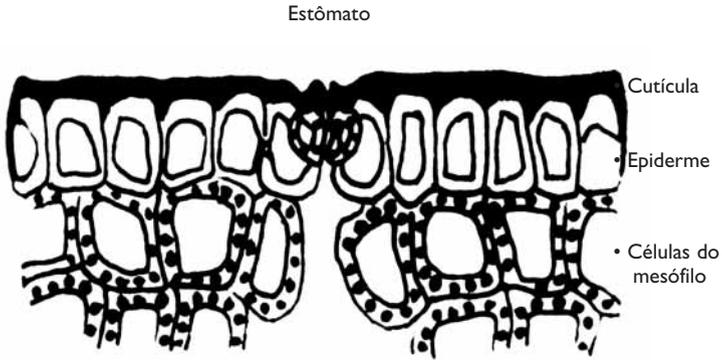


Figura 4 • Cutícula de *Clivia nobilis*

função é minimizar as perdas de água da folha, quando os estômatos estão fechados (Chamel *et al.*, 1991). Na epiderme podem ocorrer pêlos, chamados de tricomas (Figura 5), que podem ter uma função de diminuir o aquecimento da folha e a evaporação da água ou, nas plantas halófitas, de extrusão de sais para a superfície das folhas (Poljakoff-Mayber, A. & Lerner, 1994). O mesófilo é constituído pelo parênquima paliçádico, que são

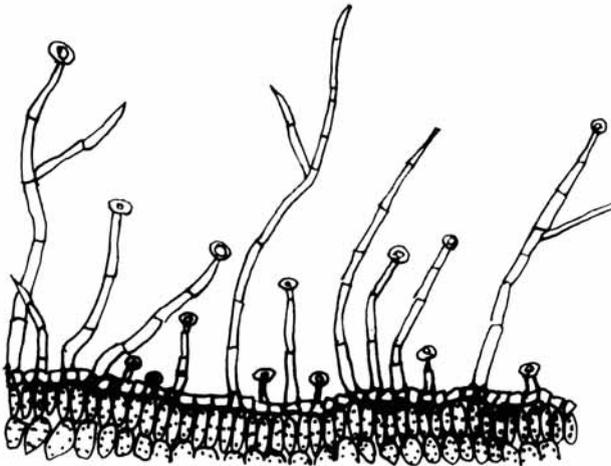


Figura 5 • Tricomas (pêlos) na superfície de folha de *Talonnia tomentosa*

células alongadas, dispostas perpendicularmente à superfície da folha, com menos espaços intercelulares, e do parênquima lacunoso, que são células irregulares com mais espaços intercelulares. A estrutura frouxa do mesófilo é responsável pela existência de uma grande superfície em contato com o ar no interior da folha, para promover as trocas gasosas de água e de CO₂ (Lüttge *et al.*, 1996). Já o sistema vascular da folha tem estreita relação espacial com o mesófilo e é composto por feixes vasculares, que se ramificam e são chamados de nervuras. A disposição destes é chamada de venação, que pode ser reticulada, mais comum em dicotiledôneas, ou paralela, mais comum em monocotiledôneas. Os feixes menores, localizados no mesófilo, apresentam-se envolvidos por uma ou mais camadas de células, que se dispõem compactamente, constituindo a bainha do feixe (Esau, 1974), o que permite a passagem da água do xilema para as células do mesófilo, e dos fotoassimilados produzidos no mesófilo para o floema. Em plantas C₄, a bainha do feixe é chamada de bainha perivascular, e, além da função de permitir um contato direto com os vasos condutores, tem a função de produzir os carboidratos, pela via C₃, que ocorre somente nessas células da bainha perivascular. A via C₄ ocorre nas outras células do mesófilo. Toda a produção de amido nas plantas C₄ cultivadas ocorre na bainha perivascular, enquanto nas C₃ isto ocorre em todas as células do mesófilo (Pimentel, 1998).

Adaptações evolutivas das plantas aos diferentes habitats, especialmente no que diz respeito à disponibilidade da água, podem estar associadas a características estruturais diferentes. No caso das plantas xerófitas, existe uma elevada relação volume-superfície, isto é, as folhas são pequenas e compactas, com mesófilo espesso, com o parênquima paliçádico mais desenvolvido que o lacunoso, pequeno volume de espaço intercelular, rede vascular compacta e, algumas vezes, com células pequenas (Esau, 1974). As xerófitas apresentam muitas vezes uma hipoderme (tecido com poucos cloroplastos ou desprovido deles, segundo Esau, 1974), ou também chamada de epiderme múltipla (três camadas em *Nerium oleander* - Figura 6), principalmente na epiderme superior. Elas apresentam também cutícula e parede celular, principalmente da epiderme, mais espessas, estômatos em depressões e tricomas, que são características que podem reduzir a perda de água pelas plantas (Raven *et al.*, 2001).

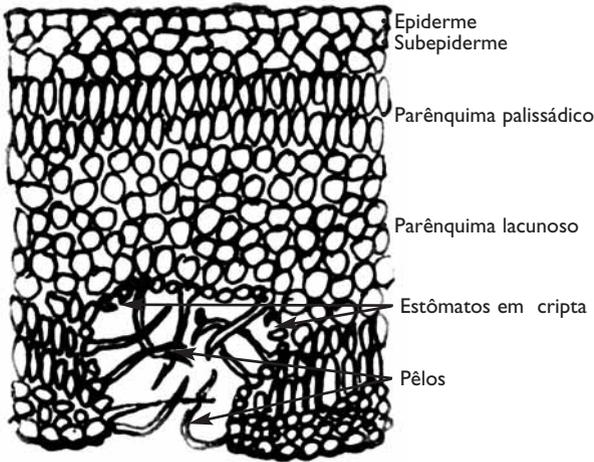


Figura 6 • Anatomia foliar de *Nerium oleander*, mostrando a tripla camada epidérmica

3.7 • O MOVIMENTO DE ÁGUA NA FOLHA

O movimento de água na folha é complexo e a água se movimentada entre pontos com diferentes Ψ_a , seguindo o caminho com maior condutância hidráulica. Assim sendo, o transporte de água provavelmente ocorre menos pela via simplástica, com menor condutância hidráulica, e mais pelas paredes celulares e espaços intercelulares, o apoplasto da folha, que corresponde a 70% do volume da folha em plantas de sombra e 20% em plantas de sol (Kramer & Boyer, 1995). Tendo em vista que a demanda de água pela atmosfera é grande (vide Capítulo 2), mesmo sob cultivo irrigado, a folha sofre um abaixamento do Ψ_a nas horas mais quentes do dia, quando o DPV é máximo (Tardieu & Simonneau, 1998). Por isto, o sistema vascular e o pecíolo das folhas têm um conjunto de células, o colênquima (células vivas com parede celular espessa), que serve como suporte, quando a turgescência celular foliar diminui, na chamada “murcha” das folhas (Milburn, 1979).

A evaporação da água na folha ocorre, segundo a maioria dos autores, da parede celular do mesófilo para os espaços intercelulares, e passa para a atmosfera via estômatos. Contudo, alguns autores argumentam que a água se evapora na superfície interna da epiderme próxima às células-

guardas dos estômatos. Atualmente, acredita-se que a água se evapore na superfície das células do mesófilo, passando para os espaços intercelulares e daí para a atmosfera via estômatos, mas também, em uma pequena parte, pela cutícula da epiderme (Kramer & Boyer, 1995).

Apesar do principal fluxo de água, da planta para a atmosfera, ocorrer através dos estômatos (a condutância estomática máxima, g_s , varia de $0,21 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em gramíneas C_3 e C_4 , a $0,15 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em plantas de deserto, ou a $0,08 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em plantas suculentas), em condições de déficit de água, os estômatos se fecham e a perda de água para a atmosfera se dá pela cutícula (a condutância cuticular pode variar em mesófitas, de $0,0069 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em algodão, a $0,0219 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em feijão comum, e em xerófitas, de $0,0043 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em *Zygophyllum dumosum* a $0,0010 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ em *Haloxylon articulatum*), segundo Weyers & Meidner (1990).

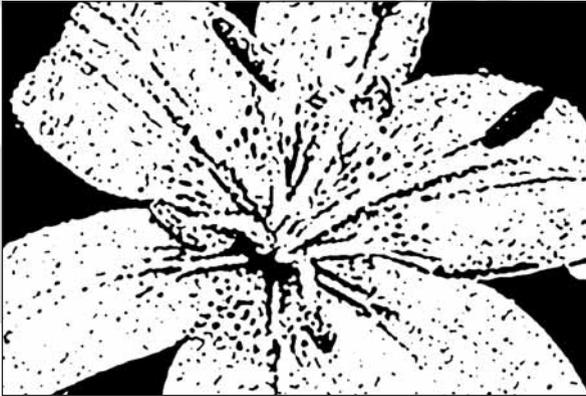
3.8 • A CAMADA-LIMITE À FOLHA

A camada-limite à folha deve ser distinguida do restante da atmosfera, pois com a evaporação da água da folha, passando pela abertura estomática, cria-se uma pequena camada de ar ao redor da folha com alta concentração de água (formam-se conchas com alta concentração de vapor de água concêntricas à abertura dos estômatos), com fluxo de ar paralelo à folha plana, devido ao efeito do vento (Angelocci, 2002), e que tem uma concentração de água superior ao restante da atmosfera, onde o ar é mais turbulento (logo acima da camada-limite), pelo efeito do vento (Nobel, 1999).

Esta camada-limite tem espessura que é dependente de uma série de fatores, tais como: a anatomia de folha, o seu tamanho e forma, e a presença de pêlos (tricomatos) que retêm o vapor de água; a velocidade do vento, que, segundo Milburn (1979), pode reduzir a espessura desta camada de 4mm para 0,4mm ou menos; e a temperatura e a concentração de água na folha e no ar (Kramer & Boyer, 1995). Assim, o valor real da espessura desta camada limite é variável e é calculada empiricamente (Angelocci, 2002), principalmente para uso nos equipamentos de medição das trocas gasosas de CO_2 e de H_2O (Long & Hallgren, 1993).

Capítulo 4

A Perda de Água Pelas Plantas e o seu Controle



4.1 • INTRODUÇÃO

Desde o início do século XX, os fisiologistas vegetais já se preocupavam com o efeito da perda de água pela transpiração sobre o crescimento, assimilação do CO_2 e balanço de energia da planta, como Pfeffer (1912): “Em função da transpiração e do fornecimento de água, o estado de turgescência e, por conseqüência, o crescimento das plantas terrestres é submetido a variações consideráveis e, quando a planta murcha, pode ocorrer paralisação do crescimento.”; “O crescimento depende enormemente da água que a planta contém e que pode obter. Uma ligeira queda da turgescência celular é suficiente para causar uma diminuição notável do crescimento celular e, quando a membrana celular deixa de estar sob pressão (pressão de turgescência), o crescimento cessa.”; ou os textos de Maximov (1929):

“As folhas devem manter a comunicação entre as células do clorênquima e a atmosfera, que contém o dióxido de carbono necessário à nutrição vegetal. O inevitável resultado disto é o processo de perda de água conhecido como transpiração e, se a transpiração excede a absorção de água, a planta murcha ou mesmo morre. O trabalho de vaporização da água na folha consome em torno de 80% ou mais da energia solar absorvida por esta.”; “Em milho, os estômatos se fecham no meio do dia em dias quentes, mesmo quando as plantas estão bem supridas em água. A causa desta regulação (da transpiração, via fechamento estomático) eu estou inclinado a buscar nas condições de suprimento de água e no movimento da água pela planta, pois com a coesão entre as partículas da coluna de água formada na planta de cima até embaixo, um retardo no movimento de água embaixo inevitavelmente envolve um retardo em cima. E assim, a pressão de vapor de água, na superfície das paredes das células (do mesófilo foliar), onde ocorre a evaporação da água, diminui e a transpiração decresce. À medida que a perda de água excede a absorção (pelas raízes), a resistência ao fluxo de água nos espaços intercelulares aumenta.”

A transpiração é considerada a perda de água das plantas para a atmosfera, na forma de vapor de água, e é o processo dominante nas relações da planta com a água. Isto ocorre por causa do grande volume envolvido no processo e seu efeito no conteúdo de água da planta, assim como na geração de um gradiente de energia (Ψ_a), que é o principal fator de controle da absorção de água do solo e de sua ascensão à parte aérea, junto com os nutrientes, pelo xilema (Sutcliffe, 1971; Winter, 1976; Milburn, 1979). Durante o seu tempo de vida, a planta transporta uma quantidade imensa de

água, na proporção de 200 a 1000 vezes a sua massa seca. A água perdida para a atmosfera, pela transpiração, é uma consequência inevitável da necessidade de assimilação do CO_2 atmosférico, pela fotossíntese, pois, quando a planta abre os estômatos para a aquisição do CO_2 , ocorre a perda de água pela transpiração (Hsiao & Xu, 2000). Em dias quentes e ensolarados, mesmo em um campo irrigado, a transpiração pode causar uma murcha transiente no meio do dia e, com o dessecamento do solo, ela pode causar a murcha permanente e morte por desidratação, se a umidade do solo não for reposta por chuvas ou por irrigação. No mundo, provavelmente mais plantas sofrem injúrias ou morrem por desidratação causada pela transpiração excessiva que por nenhum outro único fator (Kramer & Boyer, 1995).

Durante os últimos 400.000.000 de anos de evolução das plantas, o número de estômatos por folha aumentou dramaticamente, especialmente há 360.000.000 de anos, na evolução da microflora para a macroflora, quando ocorreu uma diminuição significativa na concentração de CO_2 atmosférico. Contudo, com a pressão seletiva de ambientes secos e salinos, as diferentes vias fotossintéticas (C_3 , C_4 e CAM) e variações no comportamento estomático entre espécies começaram a evoluir (Dietrich *et al.*, 2001).

4.2 • A PERDA DE ÁGUA PELA TRANSPIRAÇÃO

Portanto, para a compreensão da importância dos efeitos da perda de água pela transpiração, principalmente em clima tropical submetido a altas variações de temperaturas, deve-se ter uma visão biofísica do processo. Segundo Nobel (1999), uma superfície úmida exposta ao ar perde tanto mais água, na forma de vapor por unidade de área e de tempo, quanto maior for o gradiente de pressão de vapor entre essa superfície e o ar, que, por sua vez, depende da temperatura ambiente. Isto é, quando a concentração de vapor d'água logo acima da superfície úmida (na camada-limite à folha, por exemplo) é maior que a do ar mais distante desta superfície. A evaporação, em condições não limitadas de suprimento hídrico e sem impedimento de difusão de vapor d'água (para a planta, isto ocorre quando os estômatos estão completamente abertos), é denominada de evaporação potencial, e nas regiões subtropicais áridas pode chegar a $10\text{-}15 \text{ kg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$; em clima mediterrâneo; no período seco, chega a $5\text{-}6 \text{ kg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, na zona equatorial, $3\text{-}4 \text{ kg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$; e na zona temperada pode chegar a $4 \text{ kg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, em dias claros de verão, mas em média, e durante o período de crescimento da vegetação, fica por volta de $2 \text{ kg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ (Larcher, 2000).

A importância da quantidade de água perdida pela transpiração é salientada quando se analisam os números, como a perda de 200kg de água por uma planta de milho durante todo o seu ciclo, ou que são necessárias várias centenas de gramas de água para produzir um grama de massa seca na planta, sendo que aproximadamente 95% desta água são perdidos pela transpiração (Schroeder *et al.*, 2001). A transpiração tem efeitos benéficos e nocivos. Os efeitos benéficos são o resfriamento da folha, devido ao alto calor de vaporização da água (Capítulo 2 e Quadro 1), aceleração da ascensão da seiva do xilema e aumento da absorção de minerais. Já os efeitos nocivos são numerosos, como as injúrias causadas, até a morte, por desidratação. Contudo, a transpiração é um processo indispensável, pois a estrutura foliar favorável à absorção do CO₂ pela fotossíntese é também favorável à perda de água. A evolução da estrutura foliar para privilegiar altas taxas fotossintéticas aparentemente teve maior valor para a sobrevivência, na maioria dos *habitat*, que uma estrutura para a conservação de água, mas que reduziria a fotossíntese, como no caso das plantas xerófitas (Figura 7). Por isso, a anatomia de plantas mesófitas (Figura 7) leva-as a conviver com o perigo de injúrias causadas por uma transpiração excessiva (Kramer & Boyer, 1995). Portanto, segundo Schulze (1986), a planta pode sofrer uma falta de água causada pela atmosfera e/ou, pelo solo, quando ambos estão com baixos conteúdos de água, e em ambos os casos pode ocorrer a desidratação da planta.

Assim, o controle da abertura estomática é primordial para a manutenção da taxa fotossintética máxima com uma mínima taxa de transpiração, tendo prioridade para manter a máxima fotossíntese, com a

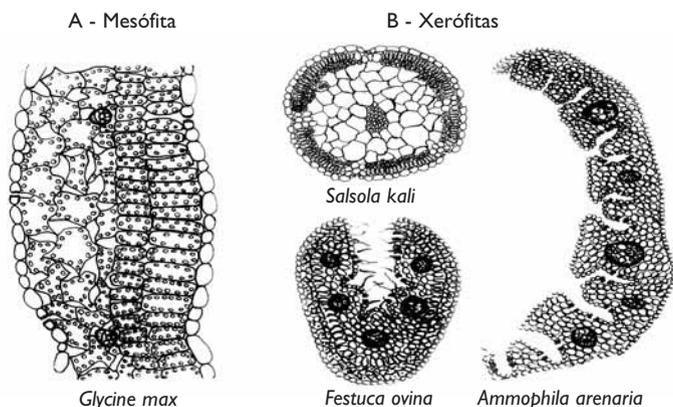


Figura 7 • Anatomia de folha de várias xerófitas e uma mesófitas

menor perda de água possível (Farquhar & Sharkey, 1982). A relação entre estas duas taxas é variável entre espécies e dentro da espécie, e é chamada de eficiência no uso de água, podendo ser usada como variável fisiológica de uso na seleção de plantas (Osmond *et al.*, 1980; Pimentel *et al.*, 1999b). A evolução das vias fotossintéticas C_4 e CAM ocorreu provavelmente a partir da via C_3 , devido à pressão seletiva para ambientes secos, salinos e com temperaturas altas, com base no metabolismo de carbono e eficiência no uso de água. Enquanto as C_3 perdem em torno de 600 moléculas de H_2O por molécula de CO_2 fixada, as C_4 e CAM perdem em torno de 100 e 10 moléculas de H_2O por molécula de CO_2 fixada, respectivamente (Dietrich, 2001).

A água evapora de toda a superfície da planta em contato com a atmosfera, como a parede externa, mais ou menos cutinizada, da epiderme (transpiração cuticular, que no máximo varia de 2 a 20 $mmol.m^{-2}.s^{-1}$) e de toda a superfície interna, que está em contato com o ar, nas paredes das células do mesófilo foliar passando para os espaços intercelulares, e destes para o exterior da planta, via estômatos (condutância estomática, que, para estômatos abertos, pode variar de 160 a 800 $mmol.m^{-2}.s^{-1}$), passando pela camada-limite (com valores típicos de 300 a 3000 $mmol.m^{-2}.s^{-1}$; mesmo com estes altos valores, a camada-limite serve para refrear a transpiração) e alcançando a atmosfera aberta (Larcher, 2000).

Os fatores ambientais influenciam a transpiração na medida em que alteram o gradiente de vapor d'água entre a superfície da folha e o ar que a envolve, e os principais fatores que afetam a transpiração são o balanço de energia entre o sol e a folha, a umidade e temperatura do ar, o vento e a disponibilidade hídrica do solo (Angelocci, 2002). Portanto, a transpiração intensifica-se com a diminuição da umidade relativa do ar e com o aumento da temperatura do ar, como discutido no Capítulo 2 (Tabela 1). Um exemplo dessa relação, e dos valores do gradiente de concentração de vapor d'água, é dado por Nobel (1999): uma folha de uma planta mesófila (com um Ψ_a de -1,0 MPa nas paredes celulares do mesófilo), ao absorver radiação luminosa, se aquece a 25°C, enquanto o ar está a 20°C (a camada-limite tem um valor de temperatura intermediário), e terá uma umidade relativa e concentração de vapor de água, respectivamente, de 99% e 1,27 $mol m^{-3}$, nos espaços intercelulares da folha, 95% e 1,21 $mol m^{-3}$, na câmara subestomática, 47% e 0,60 $mol m^{-3}$, na camada-limite da folha, e 50% e 0,48 $mol m^{-3}$, no ar turbulento (Note-se que apesar da umidade relativa do ar [50%] ser superior àquela da camada-limite [47%], a concentração de água no ar [0,48 $mol m^{-3}$] é menor que a da camada-limite [0,60 $mol m^{-3}$], devido à temperatura do ar ser maior que a da camada-limite).

A taxa de transpiração depende do suprimento de água na superfície de evaporação, do suprimento de energia para vaporizar a água, do gradiente de Ψ_a entre a planta e a atmosfera, das condutâncias radicular, xilemática, estomática e cuticular, assim como da anatomia da folha, principalmente da área foliar (Kramer & Boyer, 1995; Tyree, 1997). A taxa de transpiração é usualmente alta para plantas com grande área foliar, mas a taxa fotossintética também o é. Contudo, para clima tropical, onde freqüentemente ocorre excesso de radiação luminosa causando fotoinibição, folhas menos largas, porém mais espessas, poderiam conter o mesmo número de células e de cloroplastos e, assim, manter a taxa fotossintética alta (que depende do número e atividade dos cloroplastos), com uma menor superfície de transpiração (Pimentel, 1998). As taxas de transpiração máximas, quando os estômatos estão abertos, são relacionadas à morfologia e ecologia da planta, como visto, podendo ser muito variáveis. Segundo Larcher (2000), árvores de florestas tropicais chuvosas podem transpirar até 1800 $\text{mmoles H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$; palmeiras de trópico semi-árido, de 1200 a 1800; leguminosas herbáceas, de 9000 a 11000; gramíneas de campos, de 5000 a 10000; halófitas, de 1200 a 2500; espécies de deserto, de 1000 a 5000; e cactáceas, de 600 a 1800.

Como em clima tropical, principalmente, a quantidade de energia solar incidente sobre as plantas é grande, e poucas vezes limitante, o gradiente de pressão de vapor de água entre a superfície de evaporação na folha e o ar, que pode ser bastante alto devido às altas temperaturas do ar, controla a transpiração, que pode ser diminuída pelo fechamento dos estômatos, quando o suprimento de água do solo é diminuído (Nobel, 1999; Angelocci, 2002). A pressão de vapor do ar, e a sua conseqüente umidade relativa, dependem do conteúdo em água do ar e de sua temperatura, como visto no Capítulo 2, assim como a da folha, que depende de seu Ψ_a e de sua temperatura. O Ψ_a de um tecido vegetal completamente túrgido é próximo de zero, mas os tecidos de uma planta transpirando excessivamente podem chegar a -1,0 MPa ou menos, mesmo com o solo na capacidade de campo (Pimentel *et al.*, 1999c). Contudo, segundo Kramer & Boyer (1995), uma grande redução do Ψ_a da célula (água no estado líquido) causa apenas uma pequena redução na pressão de vapor de água nesta e, a 30°C com um Ψ_a de -3,0 MPa, a pressão de vapor de água na célula é de cerca de 98% da água pura e, assim, uma grande redução no Ψ_a da célula causa pouco efeito na taxa de evaporação da superfície celular.

Já no ar ocorre uma grande variação na pressão de vapor de água com a redução do Ψ_a do ar (água no estado de vapor; vide Capítulo 2 e, neste meio, a temperatura exerce uma grande influência na concentração de água, por estar

no estado de vapor (Angelocci, 2002; Pereira *et al.*, 2002). A meteorologia enfatiza o uso da umidade relativa do ar, que é o conteúdo de água em termos de porcentagem da saturação naquela temperatura, em vez da umidade absoluta, que é o conteúdo de água em g m^{-3} . Contudo, sem haver variação na condutância estomática e em outros fatores, a taxa de transpiração é proporcional à diferença de umidade absoluta, ou melhor, da pressão de vapor de água, entre a folha e a atmosfera (Aphalo & Jarvis, 1991). O uso da umidade relativa para análise do movimento de água entre a planta e a atmosfera leva a interpretações errôneas, caso não se tome em conta as variações de temperatura do ar, pois uma umidade relativa de 50% a 20°C deve ser aumentada para 75% a 30°C, para manter a mesma umidade absoluta e pressão de vapor de água. Se a umidade relativa for mantida a 50% a 20°C e a 30°C, a taxa de transpiração seria 80% maior a 30°C (Kramer & Boyer, 1995).

A taxa de transpiração é dependente, além da umidade e da temperatura do ar, da quantidade de radiação absorvida pela folha e do fluxo de energia dissipada por condução e convecção, assim como da dimensão da folha e velocidade do vento; e esta taxa vai afetar a temperatura da folha, a qual pode ser menor que a do ar, quando a radiação incidente é baixa, ou maior que a do ar, quando a radiação é alta e, em ambos os casos, a temperatura da folha é reduzida pelo aumento da transpiração (Angelocci, 2002). Por isso, a medida da temperatura da folha, usando o sensoriamento remoto por termometria infravermelha, é usada, quando comparada com a do ar, como indicador da taxa de transpiração e, conseqüentemente, da disponibilidade hídrica do solo, com vista à necessidade de irrigação (Idso *et al.*, 1986). Esse método para avaliar-se a necessidade de irrigação pode ser mais econômico que os outros métodos tradicionais, pois a necessidade de água pela cultura tem grande variabilidade interespecífica e intraespecífica (Doorembos & Pruitt, 1977) e, como visto acima, é dependente do ambiente em análise (Doorembos & Kassan, 1979). Outro uso da medição da temperatura de folha, pela termometria infravermelha, é a indicação de genótipos mais ou menos eficientes no uso de água (Bascur *et al.*, 1985).

Por outro lado, analisando um dossel de plantas, que é o conjunto de plantas na área estudada, além da transpiração, deve-se avaliar a evaporação da água diretamente do solo, no processo simultâneo chamado de evapotranspiração, que pode ser calculada ou medida (Pereira *et al.*, 2002). A partir de medições da evapotranspiração potencial pode-se calcular a evapotranspiração real e necessidade de irrigação para uma cultura, multiplicando o valor potencial por um coeficiente de cultura (kc), que

deveria ser calculado para a cultivar usada e para o local de plantio, mas pode-se usar um valor de referência aproximado, que é encontrado em tabelas propostas pela FAO, de Doorembos & Pruitt (1977) e Doorembos & Kassan (1979). Também a partir da medida da evapotranspiração durante o ciclo da planta em cultivo, pode-se fazer uma previsão da produtividade que poderá ser obtida (Doorembos & Kassan, 1979), como já havia sido proposto por de Wit (1958). O princípio dessa relação (entre evapotranspiração e acúmulo de massa seca na planta) é que, quanto maior for a transpiração da planta, maior será a abertura dos estômatos e, conseqüentemente, a entrada de CO_2 na folha para fotossíntese. Mas não se deve esquecer o componente bioquímico da fotossíntese, que pode se saturar e limitar a assimilação do CO_2 (Long & Hallgren, 1993) e a acumulação de massa seca (Boyer, 1978).

Os cálculos de evapotranspiração são bastante úteis para a recomendação da necessidade de irrigação, porém o seu uso, sem um manejo adequado e avaliação da qualidade da água usada, tem levado a sérios problemas de salinização e degradação de solos cultivados (Poljakoff-Mayber & Lerner, 1994). O uso de água de irrigação, com teores elevados de sais, leva a deposição destes no solo, pois a água se evapora e o sal fica na superfície do solo. O suprimento de água com baixa salinidade vem diminuindo no mundo e a irrigação vem se tornando menos viável pelo custo da obtenção da água de boa qualidade (Kramer & Boyer, 1995). No Nordeste brasileiro, por exemplo, a água do subsolo é freqüentemente salina. Dependendo do sistema de irrigação usado, também pode haver aumento da salinização (Kruse *et al.*, 1990). Segundo Hillel (1990), existiam, em 1990, 250 milhões de hectares irrigados, representando 18% das terras cultivadas, com uma expansão de 2% ano⁻¹ em países em desenvolvimento, onde 50% dessas áreas irrigadas já estão afetadas pela salinização. Um resumo das propostas de diferentes autores para uso de solos salinizados é apresentado em Pimentel (1998).

4.3 • OS ESTÔMATOS E O CONTROLE DA PERDA DE ÁGUA NA TRANSPIRAÇÃO

O termo “stoma” quer dizer boca em grego e “stomata” ou estômatos é o seu plural. O poro do estômato, chamado ostíolo, ocorre entre duas células, chamadas guarda, que são células especializadas da epiderme, com atividade metabólica distinta das outras, e, abaixo destas, fica a câmara subestomática, onde a água se evapora. As células-guarda podem ter alterada a sua extensibilidade membranal (discutido no final do Capítulo 2) e, conseqüentemente, o seu turgor e volume. O ostíolo se fecha, com a

diminuição do turgor das células-guarda, e se abre, com o aumento do turgor; isto ocorre em função de sinais externos ou internos, que são os fatores ambientais e biológicos, que modulam o crescimento da planta naquele ambiente. Existe uma sintonia entre as células-guarda e as células vizinhas, as quais aumentam seu turgor quando as células-guarda o diminuem e vice-versa, com trocas de metabólitos para manter este processo interativo (Weyers & Meidner, 1990).

Os estômatos podem existir em ambas as faces da folha (anfistomáticas), em dois terços das espécies vegetais, ou somente em uma das superfícies (hipostomástica), principalmente em árvores. Nas plantas anfistomáticas, a frequência de estômatos varia de 20 a 2000 poros mm^{-2} , mas com a maioria dos valores entre 40 e 350 poros mm^{-2} , com uma maior frequência na face inferior, exceto em algumas espécies de gramíneas, como o milho. A dimensão dos estômatos varia de 35 a 56 μm de comprimento e de 12 a 19 μm de largura, e podem ter a forma de feijões na maioria, mas em gramíneas são mais compridos que largos, com forma, muitas vezes, de halteres (Figura 8) (Weyers & Meidner, 1990). A parede celular do bordo do ostíolo é menos extensível que a externa e pode ser mais espessa, porém o que a faz menos extensível é a sua estrutura micelar, e muitas vezes ela possui uma projeção que se estende sobre os poros, cobrindo-os em parte. A parede celular, sendo mais rígida do lado do ostíolo, faz com que haja abertura deste quando a célula fica túrgida e causa o seu fechamento com a perda do turgor (Mansfield & Mcainsh, 1995).

A - Em feijão (Dicotiledôneas)

B - Em halteres (Monocotiledôneas)

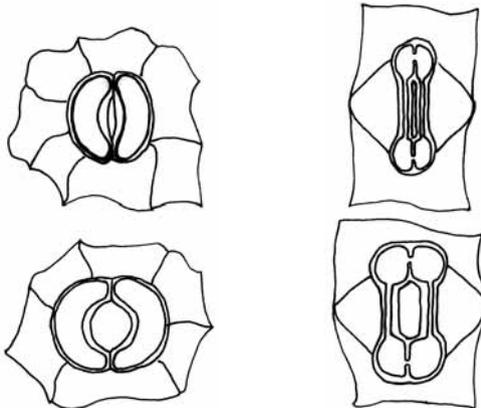


Figura 8 • Forma de estômatos em feijão e em halteres

A plasmalema das células-guarda é bastante elástica, permitindo rápidas variações de área (sua área total pode aumentar ou diminuir 30% em cinco minutos). Em *Commelina communis*, o volume citoplasmático corresponde a 21% do protoplasma (o qual corresponde a 98% do volume da célula-guarda), onde os cloroplastos (os cloroplastos medem de 4 a 6 μm e são muito maiores que as mitocôndrias, que medem em torno de 0,5 μm) ocupam 25% e o núcleo 7% do volume citoplasmático; e, apesar de não se ter sido isolado o vacúolo intacto (em células do mesófilo podem ocupar até 90% do volume do protoplasma) das células-guarda, pois há um choque osmótico causando sua ruptura, os isolados de tonoplasto em células-guarda de estômatos fechados, mostram uma área 25% superior à da plasmalema (Weyers & Meidner, 1990).

O movimento de abertura e fechamento dos estômatos e seu controle são essenciais para a regulação das perdas de água pela transpiração, mantendo a máxima taxa de assimilação de CO_2 possível para a planta (Boyer, 1978; Farquhar & Sharkey, 1982). Por exemplo, mesmo em um campo irrigado, nas horas mais quentes de um dia de verão e, por conseqüência, com a mais baixa umidade relativa do ar do dia, as plantas devem diminuir a abertura estomática para refrear a transpiração (Tardieu & Simonneau, 1998). Isto ocorre porque, como visto no Capítulo 3, freqüentemente o gradiente entre o solo e a planta é muito menor que o gradiente entre a planta e a atmosfera e, conseqüentemente, o fluxo de água do solo para a planta não poderia atender à demanda potencial de água na parte aérea, pois o fluxo de água da planta para a atmosfera, via estômatos abertos, seria muito maior que o suprimento nas raízes (Lüttge *et al.*, 1996).

Antigamente, achava-se que o turgor das células-guarda e a conseqüente abertura ou fechamento estomático eram controlados unicamente pela interconversão entre amido, que não é osmoticamente ativo, e açúcares solúveis, que são osmoticamente ativos. Na presença de luz, com o consumo de CO_2 pela fotossíntese, há aumento do pH, o que resulta na hidrólise do amido em açúcares, aumentando o turgor e abrindo os estômatos. Na falta de luz, com o decréscimo da fotossíntese, o aumento de CO_2 causa diminuição do pH e reconversão dos açúcares em amido (Kramer & Boyer, 1995). Hoje se sabe que o amido e a sacarose participam do processo, mas para manter a abertura ou fechamento a longo prazo. Para a resposta rápida, sabe-se que os principais metabólitos envolvidos no movimento dos estômatos são os íons inorgânicos H^+ , K^+ e Cl^- , junto com íons orgânicos, principalmente o malato, que, por sua vez, afeta a concentração de sacarose e de amido da célula-guarda e das vizinhas (Mansfield & Mcainsh, 1995; Dietrich *et al.*, 2001; Schroeder *et al.*, 2001). Os estômatos têm sido usados como um

modelo para os estudos sobre as interações dos mecanismos de transdução de sinais na célula, que interagem e funcionam em rede (Schroeder *et al.*, 2001).

O controle do movimento dos estômatos.

A percepção do sinal externo para o controle do movimento de estômatos pode ocorrer diretamente, sem ação hormonal, pela percepção do estímulo por receptores nas células-guarda, no caso da luz (com diferentes sistemas de percepção para a luz azul ou vermelha), das concentrações de CO₂ e de água do ar (Schulze, 1986) e da tensão de água no xilema e apoplasto foliar (Netting, 2000), ou através da ação de fitormônios. Quanto às intensidades luminosas para obter-se máxima abertura estomática, a maioria das plantas C₃ apresenta saturação luminosa para a resposta dos estômatos às baixas intensidades de 50 μmoles quanta m⁻² s⁻¹, enquanto plantas C₄ não se saturam na máxima intensidade luminosa do sol, em torno de 1700 μmoles quanta m⁻² s⁻¹. A temperatura ideal para máxima abertura se situa entre 32 e 38°C, na maioria das plantas; a concentração de CO₂ para máxima abertura se situa abaixo de 300 μmol mol⁻¹ (com o aumento da concentração de CO₂ atmosférico ocorre redução da abertura estomática); e quanto à umidade do ar, que depende da temperatura, a diminuição da abertura estomática ocorre em minutos, quando a umidade do ar diminui (Weyers & Meidner, 1990).

A indução do movimento dos estômatos, quando ocorre via um fitormônio, começa pela acoplagem deste a um receptor na plasmalema, que para alguns dos fitormônios já é conhecido, iniciando-se uma série de reações metabólicas e ativação de bombas e canais iônicos, em uma cascata de reações, nas diferentes vias de transdução de sinais, no interior da célula. Essas vias alterarão a concentração de mensageiros intracelulares, também chamados mensageiros secundários, que por sua vez induzirão alterações no conteúdo de metabólitos e da água, que causarão o movimento dos estômatos (Assmann & Zeiger, 1987; Mansfield & Mcainsh, 1995). Em relação ao balanço hídrico no SSPA, além do controle hormonal dos estômatos, a tensão de água no xilema e no apoplasto foliar controla a abertura estomática para evitar o fenômeno de cavitação (Tyree, 1997), sendo essa considerada a principal função do fechamento estomático, segundo alguns autores (Tsuda & Tyree, 2000; Cochard *et al.*, 2002). A tensão de água no mesófilo foliar induz variações no pH, pela alteração das H⁺-ATPases e do K⁺-H⁺ simporte na plasmalema (Netting, 2000), que por sua vez induzirá a passagem do ABA, preexistente nas células do mesófilo foliar, para o apoplasto e para as células-guarda dos estômatos (Popova *et al.*, 2000; Hartung *et al.*, 2002).

Portanto, este movimento dos estômatos pode ocorrer em resposta a um fator externo, como falta de água no solo, concentração de água ou CO₂ na atmosfera, ou interno, como a tensão de água no apoplasto foliar ou a necessidade de produção de fotoassimilados para o crescimento e manutenção de determinados órgãos da planta, como os reprodutivos, entre outros. As alterações metabólicas se iniciam principalmente através da fosforilação de enzimas e outras proteínas, pela ação de cinases, tornando-as ativas, ou através da indução gênica, para iniciar a cascata de eventos (Kramer & Boyer, 1995).

Antes de comentar-se sobre a ação hormonal nos estômatos, deve-se fazer algumas ressalvas. Já é bem conhecida a ação do **balanço** de fitormônios (pois um fitormônio em geral atua em conjunto com os outros, em uma sintonia fina) no crescimento e na resposta dos vegetais a estímulos externos, como por exemplo a produção de ABA em raízes dessecadas, para induzir fechamento estomático na parte aérea (Davies *et al.*, 1990), em conjunto com as auxinas e citocininas, que induzem a abertura (Mansfield & Mcainsh, 1995). Durante a formação de raízes adventícias de *Commelina communis* L. há diminuição da produção de ABA e aumento de citocinina nestas raízes, causando assim a abertura estomática, com aumento da fotossíntese e da transpiração, e a excisão destas raízes diminui o conteúdo de ABA e aumenta o de citocininas em folhas, causando fechamento estomático e diminuição da fotossíntese e transpiração (Wang *et al.*, 1994). Contudo, deve-se ter cautela na afirmação de que as respostas aos estímulos são controladas exclusivamente pelos fitormônios. Estes estão envolvidos no controle dos processos responsáveis pela resposta, mas provavelmente agindo em conjunto com outros metabólitos, como os teores de carboidratos nos tecidos (Farrar, 1996), e com a expressão gênica de enzimas e estímulos exógenos e endógenos percebidos diretamente na célula que, em conjunto, produzirão a resposta do vegetal. Além disso, deve-se atentar que muitas vezes pode existir 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 pode estar inativa por causa de ligações químicas com outros compostos (não podendo ser dosados) ou por compartimentalização, dependentes de pH e polarização de membranas, ou mesmo estando fora da planta na rizosfera (Hartung *et al.*, 2002). Além disso, para o estímulo dado por fitormônios, necessita-se de receptores celulares no sítio de ação do fitormônio, que perdem a sensibilidade com a idade do órgão e sob efeito de fatores ambientais, como disponibilidade de água e nutrientes, temperatura e fotoperíodo (Marchner, 1995). Alguns exemplos de receptores celulares para a percepção de um

estímulo externo, já conhecidos, são a enzima histidina cinase (AtHK1) transmembranar, que é um sensor para o estresse osmótico (Knight & Knight, 2001) ou no caso da luz azul, que é percebida diretamente no interior da célula pelas proteínas CRY e NPH1, e talvez também pela zeaxantina (Schroeder *et al.*, 2001), entre outros receptores celulares.

Outrossim, parte da atividade do fitormônio em um órgão pode vir da sua síntese em outro órgão específico, como o ABA produzido nas raízes e em folhas maduras (Hartung *et al.*, 2002) sobre os estômatos na folha, mas uma parte do ABA pode ser proveniente da própria folha ao se concentrar, do restante do apoplasto foliar, na plasmalema das células-guarda (Popova *et al.*, 2000). Outro fator de complicação no estudo dos efeitos hormonais, que foi comentado anteriormente, é que a ação de um fitormônio não é isolada, mas sim em conjunto com os outros fitormônios, sendo que muitas vezes um fitormônio estimula e o outro reprime o processo para que haja uma sintonia fina da resposta, como na interação entre ABA e citocininas (Wang *et al.*, 1994) e entre auxinas e ABA (Mansfield & Mcainsh, 1995). Portanto, deve-se ter em mente que uma resposta da planta é função do balanço de fitormônios e de outros metabólitos, assim como da ação gênica e enzimática (Kramer & Boyer, 1995).

Quanto ao efeito dos fitormônios sobre os estômatos, sabe-se que as auxinas afetam a fotossíntese induzindo a abertura estomática, em uma sintonia fina com outros fitormônios, como o ABA, que é produzido quando há dessecação do solo, e que induz o fechamento estomático. Por exemplo, sob falta de água, quando há necessidade de uma resposta rápida às variações ambientais de luz, CO₂ e UR%, mesmo sob efeito do ABA, as auxinas podem induzir uma certa abertura dos estômatos (Mansfield & Mcainsh, 1995). O efeito para a abertura estomática começa com a acidificação do apoplasto em torno das células-guarda, devido à atividade da bomba de prótons nas células-guarda, a ATPase (H⁺-ATPase) da plasmalema, promovendo a extrusão de prótons, que, por sua vez, vai ativar os canais de influxo de K⁺ na célula-guarda, promovendo a abertura dos estômatos (Grabov & Blatt, 1998; Dietrich *et al.*, 2001). A extrusão de prótons é importante para uma série de processos, que afetam o crescimento da planta. Por exemplo, a acidificação da parede celular pela extrusão de prótons rompe as ligações entre as fibrilas de celulose, ou ativa enzimas de degradação de celulose, permitindo assim o deslizamento destas fibrilas, e o conseqüente aumento de volume na célula, quando há uma pressão de turgescência mínima. Portanto, as auxinas ou a toxina fúngica fusicosina (que causa o mesmo efeito) estimulam a extrusão de prótons e, conseqüentemente, a expansão celular (Marschner, 1995; Morris, 1996).

Já as citocininas induzem aumento da atividade fotossintética, pelo incremento do conteúdo foliar de clorofilas, acelerando o desenvolvimento de cloroplastos ou modulando a atividade de enzimas fotossintéticas, retardando assim a senescência e, provavelmente, interagindo de alguma maneira com a ação de auxinas e de ABA no controle estomático; as citocininas produzidas nas raízes são transportadas junto com o ABA, via xilema, para a parte aérea, onde causa estes efeitos (Wang *et al.*, 1994).

Quanto às giberelinas, os seus efeitos sobre a abertura estomática e atividade fotossintética são pouco conhecidos, só se sabe que elas estimulam a exportação de sacarose da folha, sendo consideradas indutoras de desenvolvimento reprodutivo, e há uma interação entre giberelinas e auxinas estimulando a atividade dos drenos de reserva e o crescimento da planta (Tamas, 1995).

Outros compostos, que estão em estudos como tendo possível ação hormonal, são as poliaminas, o ácido jasmônico e brassinosteróides, que se sabe influenciar a resposta da planta à falta de água (Kramer & Boyer, 1995) assim como o ácido salicílico e espécies ativas de oxigênio (EAO), que também podem estar envolvidos na transdução de sinais para os efeitos e respostas à seca (Marschner, 1995).

A ação dos fitormônios ou do estresse na célula ocorre, como já foi dito, provavelmente através de um receptor membranar ou no protoplasma, conhecido para alguns deles, que induzirá, por sua vez, a transdução do sinal dentro da célula, através de uma série de reações em cascata. As principais vias de transdução de sinais intracelulares, já bem conhecidas, são: os níveis de Ca^{2+} no citosol e sua associação com a calmodulina (Ca-CAM); a via do inositol-1,4,5-fosfato (IP_3), que controla também os níveis de Ca^{2+} no citosol, e é produzido pela ação da fosfolipase C e da fosfolipase D nos fosfolípidos membranares, cujos mRNA são produzidos sob estresses por frio, osmótico e por seca; a via de proteínas G, afetando também a ativação de cinases ativadas por mitogene (“MAPK”) e produção do inositol-1,4,5-fosfato; alterações no pH citosólico e potencial transmembranar, causando o movimento de íons, que por sua vez modularão processos com o de abertura e fechamento estomático; a ação das cinases dependentes de Ca^{2+} (CDPK) e transportadores membranares; a produção de ácido salicílico e EAO e a ação gênica, através da expressão de fatores de transcrição específico para estresse por seca (DRE, CBF, ZEP, NCED, AAO3 e MCSU, entre outros) (Leckie *et al.*, 1998; Xiong *et al.* 2002). Essas vias de transdução de sinais intracelulares interagem e afetam umas às outras (Schroeder *et al.*, 2001). Após a percepção e transdução

do sinal, o processo celular de resposta é iniciado em geral pela ativação, via 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), mas a sua aplicação exógena resulta em abertura estomática, na presença de luz, segundo Leckie *et al.* (1998). Mais detalhes sobre alguns dos mecanismos de ação e a interação entre estes sinais intracelulares foram revistos em Pimentel (1998), e para as respostas aos estresses por frio, osmótico ou por seca, em Xiong *et al.* (2002).

O ácido abscísico (ABA) e o controle estomático – Um dos efeitos conhecidos do ABA é sobre o controle estomático em folhas (Davies *et al.*, 1990). O ABA produzido na raiz, que fica tanto na raiz quanto na solução do solo (Hartung *et al.*, 2002), mas também é produzido em folhas maduras, é exportado para as folhas, onde a transpiração é mais intensa, causando fechamento estomático e diminuindo a atividade fotossintética em pouco tempo, talvez pela diminuição da atividade carboxilase e aumento da atividade oxigenase da rubisco. O ABA afeta a abertura estomática, controlando o influxo e efluxo de K^+ nas células-guarda, assim como os de Cl^- e de ácidos orgânicos na plasmalema e tonoplasto destas células, para o balanço iônico (Müller-Röber *et al.*, 1998). Este processo controlará a entrada ou saída de água nas células-guarda, e o conseqüente movimento estomático (Assmann & Zeiger, 1987). O ABA funciona como um mensageiro (sinal) entre a raiz e a parte aérea, principalmente em condições de dessecação do solo, para induzir o fechamento estomático e economizar água, antes mesmo de haver variações no Ψ_a da folha (Davies *et al.*, 1990). Outros estresses como excesso de água e salinidade também induzem a formação de ABA, como mensageiro entre a raiz e a parte aérea. O ABA tem também interação com a produção de etileno, pois, na folha, este último inibe a fotossíntese, provavelmente pela indução do fechamento estomático e aumento do teor de ABA (Mansfield & Mcainsh, 1995; Stoll *et al.*, 2000), e na raiz o etileno inibe o crescimento radicular (Spollen *et al.*, 2000).

Assim, a ação do ABA na planta não é tão simples. Hoje se sabe que mesmo sem haver uma variação da concentração de ABA na folha, pode haver a indução do fechamento estomático pelo ABA, pois, como dito anteriormente, o fitormônio pode estar na forma inativa ou compartimentalizado nas células epidérmicas, por exemplo (Schroeder *et al.*, 2001), além de ser transportado na planta na forma de éster de glicose

(Hartung *et al.*, 1998, 2002), que não pode ser dosado. Segundo Popova *et al.* (2000), sob estresse, o ABA preexistente na folha pode se concentrar em volta da célula-guarda dos estômatos, que são considerados alvos para a distribuição do ABA intrafoliar, e a variação do pH apoplástico afeta o efeito do ABA na abertura estomática. O pH do apoplasto, quando os estômatos estão fechados, é próximo da neutralidade e a acidificação do apoplasto induz a abertura estomática. Esta acidificação causa reativação dos canais iônicos das células-guarda e muda a condutividade dos canais de K^+ (Hartung *et al.*, 1998; Netting, 2000; Popova *et al.*, 2000).

Por outro lado, a desidratação de raízes causa aumento da concentração de ABA nestas e no xilema, que causa o fechamento estomático nas folhas (Hartung *et al.*, 2002). Além da ação direta do ABA nas células-guarda, a tensão de água no xilema e apoplasto foliar ativa, mecanicamente, canais de Ca^{+2} para o interior das células que, por sua vez, causam a liberação do ABA estocado nas células da epiderme para o apoplasto (Netting, 2000), para o seu transporte até as células-guarda. Hoje em dia, a desidratação parcial das raízes (gotejamento de um lado da linha de plantio) é considerada uma nova prática de irrigação, que aumenta a eficiência no uso de água em videira, sem afetar a produtividade (Stoll *et al.*, 2000).

Na raiz, o metabolismo do ABA também começa a ser melhor compreendido. Uma das funções da acumulação do ABA na raiz é a restrição da produção de etileno nesta (a produção de etileno no tecido vegetal inibe o seu crescimento), para manter o crescimento radicular, sob desidratação (Spollen *et al.*, 2000). O seu acúmulo na parte aérea pode ter a mesma função, isto é, modular o crescimento da parte aérea (Sharp & LeNoble, 2002). Por outro lado, o ABA acumulado nas raízes pode ter sido sintetizado nas folhas e transportado para estas (Hartung *et al.*, 2002), podendo ser acumulado fora das raízes, na rizosfera, na forma livre ou como éster de glicose, e a sua redistribuição na raiz controla o seu efeito nesta, assim como, sob alta taxa de transpiração, o ABA livre e o conjugado com éster (Hartung *et al.*, 2002) são carreados pelo fluxo de água apoplástico, atravessando a endoderme, sendo transportados para a parte aérea (Freundl *et al.*, 1998, Steudle, 2000). Assim sendo, mais estudos são necessários para a melhor compreensão dos efeitos do ABA, como fitormônio do estresse, no metabolismo vegetal.

O movimento de abertura dos estômatos – Ainda existem dúvidas sobre o mecanismo de abertura estomática, apesar de se conhecer quais os íons

(H^+ , K^+ , Cl^- e malato) e os carboidratos (sacarose e amido) envolvidos, na regulação osmótica e no turgor das células-guarda. Há também a participação do Ca^{2+} e do Inositol-TriFosfato (IP_3) na indução do fechamento estomático em resposta ao ABA e ao CO_2 (Mansfield & Mcainsh, 1995; Schroeder *et al.*, 2001), mas os mecanismos ainda são objeto de debate, sobretudo para a abertura estomática, e em resposta a luz e auxinas (Dietrich *et al.*, 2001).

A abertura estomática é iniciada pela extrusão de H^+ , através das H^+ -ATPases membranares, que são ativadas por auxinas, luz azul ou vermelha [os receptores de luz nas células-guarda são autônomos e induzem diretamente a abertura dos estômatos (Schroeder *et al.*, 2001)], causando a hiperpolarização (diminuindo mais ainda o potencial eletroquímico da célula-guarda), o que permitirá o movimento de íons para dentro e para fora da célula. Assim sendo, o transporte de íons é energizado pelo gradiente de potencial eletroquímico entre os dois lados da membrana, promovido pela bomba de H^+ , dependente de ATP [as H^+ -ATPases, que gastam energia produzida na fotossíntese ou na respiração da célula (Assmann & Zeiger, 1987)], e é facilitado por canais e bombas iônicas (Grabov & Blatt, 1998).

Este controle do pH citoplasmático e, portanto, do potencial eletroquímico é mediado por um tipo de proteína integral de membranas, as H^+ -ATPases da plasmalema (“PMHA”), que também existem no tonoplasto e no cloroplasto. Essa proteína usa energia química do ATP para transferir prótons para fora do citoplasma, e é também chamada de bomba de H^+ , requerendo uma interação com os fosfolipídeos membranares para a sua ativação. Portanto, o transporte de prótons é dependente dos fosfolipídeos membranares, que são alterados pela ação das fosfolipases C e D, que modulam então a atividade da H^+ -ATPase (Kasamo & Sakakibara, 1995; Xiong *et al.*, 2002). Outrossim, os valores do potencial eletroquímico celular (E_M) são bastante variáveis, de -40mV a -220mV. Um aumento na diferença de potencial eletroquímico entre o apoplasto e o citoplasma, ou hiperpolarização, é sinônimo de uma diminuição de E_M (potencial eletroquímico transmembranar mais negativo, atingindo os valores de -100 a -220mV), e uma diminuição da diferença de potencial eletroquímico, ou despolarização, é sinônimo de um aumento de E_M (potencial eletroquímico transmembranar menos negativo, passando, por exemplo, de -100 a -220mV, para -50 a -90mV). Tendo em vista que os canais iônicos nas membranas celulares são sensíveis à voltagem e/ou são Ca^{2+} -dependentes, a polarização das membranas irá ativar ou desativar estes canais, permitindo o transporte de íons para dentro ou para fora da célula (Jacoby, 1994).

Para ocorrer a abertura estomática, essa hiperpolarização, causada pela atividade das H^+ -ATPases [com acidificação do apoplasto, que pode ser responsável pela ativação dos canais de K^+ para o citoplasma (Dietrich *et al.*, 2001)], por sua vez, induzirá um influxo de K^+ , através dos canais de K^+ , ocorrendo em seguida um influxo de Cl^- , via H^+ /anion simporte ou anion/ OH^- antiporte, na plasmalema (Schroeder *et al.*, 2001). A concentração de K^+ apoplástico, durante a abertura estomática, decresce de 15 mM, no escuro, para 3 mM, em presença de luz, e a concentração do K^+ citoplasmático aumenta de 100 para 400 mM. Já o potencial de Nernst para o K^+ varia, na abertura estomática, de -60 mV para -130 mV, podendo se equilibrar a valores em torno de -112 mV (Dietrich *et al.*, 2001).

Em paralelo, há um rápido acúmulo de malato no citoplasma (contribuindo, junto com o K^+ e o Cl^- , para aumentar a pressão osmótica no citoplasma das células-guarda), assim como de sacarose, que é mais lentamente acumulada, sendo ambos osmoticamente ativos. O malato pode ser produzido diretamente na célula-guarda, pela Fosfoenol Piruvato carboxilase, que é inexistente no restante do mesófilo de *Vicia faba*, por exemplo (Muller-Röber *et al.*, 1998), uma planta C_3 , mas o malato pode ser oriundo também da respiração, com a hidrólise do amido (Assmann & Zeiger, 1987). O acúmulo de malato e de Cl^- no citoplasma equilibra o acúmulo de K^+ no citoplasma da célula, como resposta rápida ou inicial do dia, por exemplo, com posterior acúmulo de sacarose ao longo do dia. O conteúdo de K^+ nas células-guarda decresce durante o decorrer do dia e deixa de se correlacionar com o grau de abertura estomática, enquanto o conteúdo de sacarose aumenta gradativamente e, ao meio dia e à tarde, o conteúdo de sacarose passa a correlacionar-se melhor com o grau de abertura estomática, segundo Talbot & Zeiger (1998). Todos esses metabólitos são osmoticamente ativos e, com o acúmulo desses dentro da célula-guarda, há também entrada de água, das células vizinhas, aumentando o seu turgor e abrindo os estômatos (Weyers & Meidner, 1990; Kramer & Boyer, 1995).

Assim, a polarização da plasmalema, via atividade das H^+ -ATPases, tem uma função primordial para criar o gradiente de cargas necessário para a entrada do K^+ no citoplasma, por canais, com gasto indireto de energia para promover a entrada do K^+ , via esta polarização de membrana. Sabe-se, por exemplo, que a luz azul ativa a H^+ -ATPase, via a fosforilação do C terminal, e pode ser percebida diretamente no interior da célula pelas proteínas CRY e NPH1 e talvez também pela zeaxantina (Schroeder *et al.*, 2001), mas ainda há dúvidas sobre a participação destes compostos na percepção do sinal externo

(Dietrich *et al.*, 2001). A acidificação do apoplasto, causada pela hiperpolarização da membrana através da H^+ -ATPase, aumenta a atividade dos canais de K^+ para o interior da célula, enquanto o aumento do conteúdo citoplasmático de IP_3 e Ca^{+2} pode inibir estes canais. As fosfolipases C e D estariam envolvidas nestas respostas causando liberação do IP_3 da membrana e/ou ativando a H^+ -ATPase (Xiong *et al.*, 2002).

Assim, o principal soluto que mantém a abertura estomática no início do dia ou em caso de uma resposta rápida, devido a fatores internos ou externos, é o K^+ , mas, durante o resto do dia, o conteúdo de sacarose vai aumentando e esta passa a ser o soluto principal, enquanto o conteúdo de K^+ da célula-guarda diminui (Schroeder *et al.*, 2001).

O movimento de fechamento dos estômatos – O fechamento estomático requer efluxo de íons e, conseqüentemente, de água da célula, e o efeito do ABA nesse processo, que já é bastante estudado, serve como modelo. O ABA, produzido sob falta de água, inibe a abertura estomática, provavelmente via aumento do conteúdo citoplasmático de Ca^{+2} e conseqüente inibição das H^+ -ATPases, com acidificação do citoplasma, e via inibição das fosfatases PP1 e PP2A, que ativariam os canais de K^+ para o interior da célula, e assim causa o fechamento dos estômatos (Grabov & Blatt, 1998). Como o ABA, a obscuridade, o aumento de CO_2 atmosférico ou oriundo da respiração no mesófilo foliar, assim como elicitores produzidos por patógenos, as EAO, como mecanismo de defesa da planta para reduzir o acesso do patógeno ao interior da folha, e altas concentrações dos poluentes atmosféricos O_3 e SO_2 também causam o fechamento estomático (Dietrich *et al.*, 2001; Schroeder *et al.*, 2001).

O ABA induz aumento do conteúdo de Ca^{+2} no citosol da célula-guarda (mas parece haver uma via de ação do ABA que é Ca^{+2} independente), que é oriundo do apoplasto ou de organelas intracelulares, como o retículo endoplasmático e o vacúolo (Leckie *et al.*, 1998). A concentração de Ca^{+2} máxima, no citosol, é de 100 a 200 nM para não formar fosfato de cálcio insolúvel na célula, mas existe uma alta concentração de Ca^{+2} externo à célula, estocado na parede celular, que pode ser transportado para dentro da célula, iniciando o processo fisiológico. Além do Ca^{+2} apoplástico, há também aquele estocado no retículo endoplasmático e no vacúolo, que são exportados para o citoplasma (Bethke *et al.*, 1995).

O aumento do Ca^{+2} citoplasmático, por sua vez, inibe a bomba de prótons (as H^+ -ATPases) e os canais de influxo de K^+ , e ativa os dois tipos de canais de efluxo de ânions (principalmente o malato e o Cl^-) da célula, o lento

e sustentável (S-tipo) e o rápido e transiente (R-tipo), e, conseqüentemente, causa despolarização da célula [como para a abertura, o fechamento estomático também gasta energia produzida na fotossíntese ou respiração da célula-guarda (Assmann & Zeiger, 1987; Kramer & Boyer, 1995)]. A despolarização, por sua vez, ativa os canais de efluxo de K^+ da célula, e, portanto, haverá um efluxo prolongado de K^+ e de anions, que contribuem para a perda de turgor da célula-guarda e o conseqüente fechamento estomático. Esses íons que são exportados da célula, também podem vir do vacúolo, onde são estocados, para o citosol, via canais de anions e de K^+ vacuolares (Mansfield & Mcainsh, 1995).

O aumento de CO_2 atmosférico e da respiração mitocondrial no escuro, assim como a produção de EAO, também causa o fechamento estomático, na mesma cascata de reações causadas pelo ABA. O receptor celular para o CO_2 parece ser a diminuição do conteúdo de zeaxantina (Schroeder *et al.*, 2001), que é produzida a partir da viloxantina, retirando elétrons dos fotossistemas (e que se transforma novamente em violoxantina durante a noite, dissipando esses elétrons), como mecanismo de defesa da fotoinibição ocorrida durante o dia (von Caemmerer, 2000).

Função do Ca^{+2} tanto no fechamento como na abertura dos estômatos – Além de estar envolvido na cascata de reações que causam a indução do fechamento estomático causado pelo ABA (citado acima), o Ca^{+2} pode estar também envolvido na cascata de reações causadas por um estímulo para abertura dos estômatos, como no caso da auxina e do efeito da luz azul (Leckie *et al.*, 1998). O aumento do conteúdo de Ca^{+2} citoplasmático, associado com a calmodulina, pode desencadear uma outra cascata de reações, ativando uma cinase específica, dependente de Ca^{+2} (CDPK), que por sua vez ativa canais vacuolares de Cl^- e de malato para o citoplasma.

Como um simples mensageiro secundário, como o Ca^{+2} , pode estar envolvido em respostas opostas, como a abertura ou o fechamento estomático, é ainda desconhecido, mas estes diferentes efeitos do Ca^{+2} podem ser devidos aos efeitos dos elicitores nos diferentes canais de Ca^{+2} e sistemas regulatórios do seu conteúdo. O ABA atua, com a ativação gênica das fosfolipases C e D, causando aumento da produção de EAO (que podem ser consideradas como mensageiros secundários para a resposta ao ABA), induzindo mudanças na polarização da plasmalema e conseqüente influxo de Ca^{+2} do apoplasto ou do vacúolo (Dietrich *et al.*, 2001), iniciando assim a cascata de reações para o fechamento estomático. Já a auxina e a luz também podem induzir o aumento do conteúdo de Ca^{+2} citoplasmático, oriundo de organelas intracelulares, causando a abertura

estomática. O estímulo para o fechamento estomático faz o conteúdo de Ca^{+2} citoplasmático oscilar, ao invés de atingir um “plateau” e se manter, e esta oscilação é necessária para o fechamento em longo prazo (Schroeder *et al.*, 2001).

Não é surpresa que as vias de transdução de sinais intercelulares interajam, mesmo para simples elicitores como o ABA e auxinas, que induzem a resposta, seja por uma via dependente de Ca^{+2} e da polarização de membranas, seja por indução gênica, e ambas são dependentes da fosforilação de proteínas. Portanto, tanto o fechamento estomático, induzido pelo ABA, quanto a abertura, induzida pelas auxinas, podem causar um aumento do conteúdo de Ca^{+2} citoplasmático, e causarão estas diferentes respostas por sistemas de transdução de sinais distintos, mas sensíveis ao Ca^{+2} (Grabov & Blatt, 1998). A ativação, induzida pelo Ca^{+2} , de um fator de transcrição particular pode ser especificada pela magnitude e cinética do aumento da concentração do Ca^{+2} no citoplasma, o que sugere que na célula as informações específicas na acumulação do Ca^{+2} podem ser decodificadas, relacionando-as a um estímulo específico (Knight & Knight, 2001).

Isso mostra que o movimento dos estômatos e os seus sistemas de transdução de sinais intracelulares são extremamente complexos e, durante o processo de fechamento ou de abertura dos estômatos, o processo inverso pode e deve ocorrer a qualquer momento, em função das variações do ambiente, numa sintonia fina, para implementar a eficiência no uso de água, isto é, permitir a máxima assimilação fotossintética de CO_2 com a mínima perda de água possível. Um bom exemplo disso é a interação entre o efeito do ABA e da auxina: quando uma planta está sujeita à desidratação, ocorre o fechamento estomático induzido pelo ABA, mas, nos períodos do dia com baixo DPV (nas primeiras horas de luz), as auxinas podem induzir uma certa abertura estomática, para realizar a assimilação do CO_2 , quando as perdas de água para a atmosfera são baixas (Mansfield & Mcainsh, 1995).

4.4 • REGULAÇÃO DO MOVIMENTO DOS ESTÔMATOS POR FATORES INTERNOS E EXTERNOS E SEU CUSTO ENERGÉTICO

Como foi visto anteriormente, os estômatos são bastante sensíveis às variações do ambiente, como a intensidade e qualidade (com diferentes vias de transdução para a luz azul ou vermelha) da luz, concentração de CO_2 , umidade do ar (sendo a resposta dos estômatos mais relacionada ao déficit de pressão de vapor do ar, que aumenta a transpiração), temperaturas ambiente (pois estas afetam o déficit de pressão de vapor), poluentes (como SO_2 , O_3 e

fluoretos), ventos e nutrição mineral (a deficiência de N, P e K reduz a sensibilidade dos estômatos de diversas espécies), ou mesmo o ataque de patógenos, pois as suas toxinas, como é o caso do conhecido efeito da fusicosina, parecem inibir os canais de K^+ (Schroeder *et al.*, 2001). Em relação à interação da abertura estomática com patógenos, Lee *et al.* (1999) demonstraram que, em tomate e *Commelina communis*, elicitores produzidos pelas plantas contra os patógenos, como o peróxido de hidrogênio, também induzem fechamento estomático, o que reduz o acesso do patógeno ao interior da folha. Pimentel & Perez (1999) mostraram que as cultivares de feijão A 222, A 285 e A 320, todas tolerantes a antracnose, apresentaram mais rápida resposta de fechamento estomático que outras cultivares mais sensíveis a este fungo quando submetidas à seca, podendo haver uma relação entre os mecanismos de transdução de sinais para o fechamento dos estômatos e de tolerância à antracnose destas cultivares.

Os estômatos também respondem a fatores internos com a concentração de CO_2 na folha, status hídrico e energético da folha e reguladores de crescimento, como os fitormônios, mas também ao conteúdo de aminoácidos e íons na folha. A energia gasta nos movimentos estomáticos é oriunda da fotossíntese e da respiração mitocondrial, pois todos os processos induzidos por elicitores internos ou externos à planta dependem, direta ou indiretamente, de energia para a transdução do sinal intracelularmente (Kramer & Boyer, 1995). Assmann & Zeiger (1987) calculam um gasto aproximado de 1,51 a 4,04 pmol de ATP na célula-guarda, para promover a hiperpolarização e acumulação de K^+ , Cl^- e malato na abertura estomática (para 10mm de abertura do ostíolo) em três horas. A fosforilação oxidativa na respiração mitocondrial pode produzir, na célula-guarda, 2,1 pmol de ATP por hora (em três horas, para a abertura citada, somente a fosforilação oxidativa pode produzir 1,4 vezes a quantidade de ATP requerida para a abertura) e a fotofosforilação nos cloroplastos da célula-guarda pode produzir 2,7 pmol de ATP por hora, também mais que suficiente, por si só, para suprir a energia requerida para a abertura.

Contudo, muitas vezes os estômatos não respondem como esperado, como é o caso do processo chamado de heterogeneidade (patchness) dos estômatos ou uma variação cíclica de sua abertura e fechamento (Kramer & Boyer, 1995). A heterogeneidade, ou “patchness”, ocorre quando os estômatos de diferentes partes da folha, na mesma ou entre as duas faces da folha, se comportam de maneira diferente, uns abertos e outros fechados, o que pode ser atribuído às diferenças nas concentrações de ABA na folha ou à diferente

sensibilidade dos estômatos de diferentes partes da folha. Estes efeitos são mais sentidos em estudos de plantas em potes, no laboratório ou em casa de vegetação, onde os estômatos são mais sensíveis aos fatores internos e externos e se fecham a valores de Ψ_a da folha superiores aos valores observados em campo, onde o fenômeno de heterogeneidade é menos freqüente (Kramer & Boyer, 1995). Esta heterogeneidade poderia causar erros de medições de trocas gasosas de CO_2 , quando estas são feitas somente em uma parte da folha. Contudo, Cheeseman (1991) deixa claro que a concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (C_i) se iguala em toda a folha, mesmo com esta variação da abertura estomática, o que não afeta a assimilação de CO_2 pela folha inteira.

A oscilação cíclica dos estômatos tem uma duração de 15 a 120 minutos, e é causada por um choque brusco de luz, temperatura ou falta de água, em plantas lenhosas, como em *Citrus* (Figura 9), que sofrem uma diminuição do conteúdo em água na folha, quando os estômatos se abrem

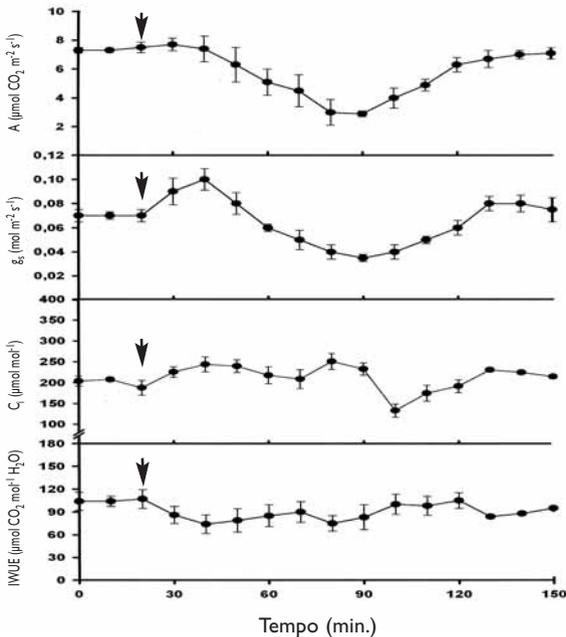


Figura 9 • Oscilação da Fotossíntese em função g_s em *Citrus* (A: taxa de assimilação de CO_2 ; g_s : condutância estomática; C_i : concentração intercelular de CO_2 ; IWUE: eficiência intrínseca de uso de água [A/g_s])

em uma atmosfera seca, o que causa aumento da transpiração, mas sem aumento da fotossíntese (Kramer & Boyer, 1995). Isto porque a assimilação de CO_2 máxima dessas plantas só é atingida após mais de uma hora sob condições ótimas, devido à baixa condutância mesofílica (g_m) para o CO_2 nessas espécies. Após um momento de máxima abertura estomática, ocorre uma indução de fechamento para implementar a eficiência no uso de água, e assim começa a oscilação da abertura estomática, até atingir-se um equilíbrio naquelas condições ambientais (Weiss, 1998).

4.5 • A EFICIÊNCIA NO USO DE ÁGUA

O conteúdo de água na planta é o resultado do balanço das taxas de absorção e de perda de água (transpiração) (Maximov, 1929). O primeiro fator está fora de controle instantâneo, sendo dependente do sistema radicular da planta e de características físicas e do 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, e o seu controle é feito pelo fechamento estomático, que é o único processo no sistema 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).

Portanto, com a abertura estomática para a aquisição de CO_2 , H_2O é inevitavelmente perdida. As plantas CAM e C_4 , de uma forma geral, em condições de suprimento de água adequado, apresentam maior eficiência no uso de água [EUA, que é igual à taxa de assimilação de CO_2 /taxa de perdas de H_2O , ou agronomicamente, à massa seca de planta produzida/massa de água consumida pela irrigação e chuvas (Kramer & Boyer, 1995)] do que as C_3 , pois podem ter os estômatos mais fechados, mantendo sua assimilação de CO_2 e perdendo menos água (Magalhães, 1979). De uma maneira geral, as plantas C_3 têm uma EUA variando de 1 a 3g 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, 1999). Isso ocorre porque as plantas C_4 apresentam uma condutância mesofílica superior à das C_3 devido à maior taxa de carboxilação, maior afinidade pelo substrato e ausência de fotorrespiração (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 poderia ser mínima, e fechados durante o dia, quando a transpiração é máxima, terão maior economia de água (Nobel, 1999). 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 ajustamento osmótico, e outros 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).

Deve-se ressaltar também que existem muitas plantas C_3 de regiões de clima árido, com grande controle estomático e conseqüente alta EUA. Além de existir uma variabilidade de EUA entre as espécies, isto ocorre também dentro da espécie, e pode ser uma característica fisiológica associada a outras, como o desenvolvimento do sistema radicular e a morfologia da parte aérea, a serem usadas no melhoramento vegetal tropical. A maior EUA das plantas não garante por si só maior adaptação à seca (Osmond et al, 1982). A EUA pode ser medida com um analisador de gases infra-vermelho, que mede as trocas gasosas de CO_2 e de H_2O . Um outro método mais sofisticado é pela discriminação isotópica do $^{13}CO_2$ $^{12}CO_2^{-1}$ nos tecidos vegetais. Apesar da maior parte do CO_2 da atmosfera ser $^{12}CO_2$, existe uma pequena quantidade de $^{13}CO_2$. Como o $^{12}CO_2$ é mais leve que o $^{13}CO_2$, ele se difunde para o interior da folha mais rapidamente, e a Rubisco fixa o $^{12}CO_2$ mais rapidamente (a FosfoEnol Piruvato Carboxilase fixa mais o $^{13}CO_2$ que a Rubisco). Assim a célula C_3 acumula mais $^{12}CO_2$ que $^{13}CO_2$ e o $^{13}CO_2$ que não é usado, restante nos espaços intercelulares, difunde-se de volta para o ar, em função do grau de abertura estomática, sendo proporcional, esta difusão de volta para a atmosfera, à transpiração (Kramer & Boyer, 1995). Assim a fixação do $^{12}CO_2$ (proporcional à taxa de assimilação de CO_2) em relação ao $^{13}CO_2$ (proporcional à taxa de perdas de H_2O , pela transpiração) nos tecidos da planta se correlaciona com a eficiência no uso de água, e pode ser usado para discriminar genótipos mais eficientes no uso de água (Farquhar & Sharkey, 1982; Ehleringer *et al.*, 1991).

White *et al.* (1990), usando a discriminação isotópica $^{13}CO_2$ $^{12}CO_2^{-1}$, 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. Já 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: $\text{EIUA} = \text{atividade fotossintética} / \text{condutância estomática}$). A EIUA, quando avaliada no estágio de pré-floração do feijoeiro, serviu para discriminar os genótipos mais eficientes (Pimentel *et al.*, 1999b).

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, principalmente 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 em cultivo de sequeiro. A eficiência do sistema radicular para absorver água e nutrientes depende de sua profundidade, volume, densidade, profusão de pêlos radiculares, longevidade 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 desses atributos morfológicos, a eficiência dos sistemas de absorção, de assimilação e de distribuição dos nutrientes pela planta também 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 baixo custo tecnológico em clima tropical (Duncan & Baligar, 1991). Vale ressaltar que a profusão de ramificações e de pêlos radiculares do sistema radicular aumenta a eficiência de captação de água (McCully, 1995), pois quanto mais fino for o sistema radicular, maior a L_p da raiz (Rieger & Litvin, 1999).

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). Deve-se salientar que, por esta plasticidade do desenvolvimento do sistema radicular, as raízes desenvolvidas no campo têm características bastante diferentes das crescidas em potes (McCully, 1995) e, por isto, cuidados na interpretação dos resultados obtidos em pote devem ser tomados (Bruce *et al.*, 2002).

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 uma variável indicadora de 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). Segundo de Wit (1958), a produção de massa seca de uma cultura, em função da evapotranspiração, é calculada pela equação:

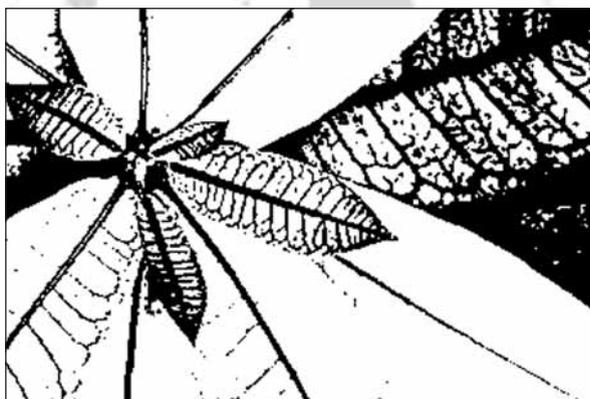
$$P = m T E^{-1}$$

onde **m** é um coeficiente de proporcionalidade específico para a cultura (0,0252, 0,0139 e 0,00662 mm dia⁻¹ para o sorgo, trigo e alfafa, respectivamente); **T** é a transpiração (em kg vaso⁻¹) e **E** é a média diária da evaporação, no tanque pan (em mm dia⁻¹), durante o ciclo da planta (que é função do local da cultura (Doorembos, & Pruit, 1977; Doorembos, & Pruit, 1977)).

Portanto, a determinação da evapotranspiração e do balanço hídrico para as regiões produtoras é primordial para que, baseado nestes dados, 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).

Capítulo 5

Respostas das Plantas à Seca



5.1 • INTRODUÇÃO

Ainda lembrando os pesquisadores do início do século XX, citados no Capítulo anterior, pode-se destacar também a preocupação destes com o efeito da disponibilidade de água no crescimento das plantas e nas respostas destas ao déficit hídrico, como Pfeffer e Maximov:

A respeito da necessidade de manter uma pressão de turgescência positiva, para que haja manutenção do crescimento Pfeffer (1912) afirma que: “A diminuição da turgescência causa uma diferença de potencial que leva ao movimento de água em direção às células e tecidos mais secos.” Sobre a interação entre o módulo de elasticidade de parede e do potencial osmótico celular, para manter a turgescência, ele afirma que: “A pressão de turgescência depende tanto da elasticidade e espessura da membrana celular quanto da pressão osmótica da célula.” Sobre o ajuste osmótico, ele cita: “Com a decomposição hidrolítica do amido insolúvel, que é realizada por uma enzima, se formam açúcares solúveis, que são osmoticamente ativos.”

Maximov (1929), considerado o primeiro autor a escrever um livro sobre as respostas das plantas à seca sobre a manutenção do turgor, diz que: “Com a progressiva perda de água e a parada ou deficiência de suprimento, as células do parênquima da folha perdem seu turgor.” Quanto ao efeito do controle estomático o autor afirma que: “Uma das primeiras conseqüências da murcha, o fechamento estomático, causa uma perda considerável da atividade assimilatória da planta, a absorção de dióxido de carbono pela folha.” Sobre a diferença de respostas de plantas à falta d’água, ele cita: “plantas e órgãos diferentes respondem de forma distinta à deficiência de água...”, e “...sementes, criptógamas, como líquens e musgos, e algas terrestres, realmente se submetem à dessecação, sendo reduzidos a uma condição de ar-seco.” Quanto a seus estudos com plantas mesófitas e xerófitas Maximov afirma que: “A necessidade de se reduzir a transpiração é vista como uma das principais peculiaridades fisiológicas das xerófitas, que vivem sob condições de extrema seca. Assim, as formas de cactus, com sua insignificante superfície de transpiração e grande quantidade de água acumulada, podem sobreviver por vários meses ou anos, nessas condições.”

Na década de 1970, principalmente, foram feitas muitas descobertas importantes, que geraram avanços na compreensão da relação da planta com a água. Por isso, para o estudo desta relação, é sempre aconselhável a leitura de revisões e livros publicados na década de 1970 e início da de 1980, antes de se dedicar às publicações mais atuais.

No Brasil, dentre outros trabalhos, os estudos de Paulo Alvim e de Coaraci Franco e Antônio Celso Magalhães, ainda na década de 1950 e 1960 (Alvim 1965; Alvim & Havis, 1954; Franco & Magalhães, 1965), são citados por Kramer & Boyer (1995). Alguns estudos de pesquisadores brasileiros sobre a relação da planta com a água foram realizados anteriormente e desenvolvidos em seguida por outros pesquisadores, como, por exemplo, os estudos de Ferri (1944 e 1955), de Ferri & Labouriau (1952), e de Labouriau *et al.* (1964), em São Paulo, e de Alvim (1946), Rena & Splittstoesser (1974), Maestri & Barros (1977) e Oliva *et al.* (1984), em Minas Gerais, entre outros.

Neste capítulo, serão comentadas algumas das respostas fisiológicas das plantas à deficiência hídrica de interesse para a compreensão do comportamento, principalmente do desenvolvimento e acúmulo de massa seca, das plantas, nestas condições mas, também, para indicar um conjunto de variáveis fisiológicas que possam ser de uso no melhoramento vegetal para a adaptação à seca, a ser discutido no capítulo seguinte. Anteriormente, se usava a terminologia “efeitos da seca”, em vez de “respostas à seca”, mas é difícil determinar-se o que é um efeito ou uma consequência do efeito. Por exemplo, a baixa disponibilidade de água causa diminuição do conteúdo em água na célula, o que é um efeito, e esta menor concentração de água na célula causa variação na atividade de enzimas, o que é uma resposta, e que pode ser favorável ou não ao processo evolutivo de adaptação à seca. Portanto, em relação a um determinado processo analisado em plantas dessecadas, é difícil afirmar se este é uma causa ou consequência, isto é, um efeito do estresse ou é decorrente desse efeito.

Dentre as muitas respostas dos vegetais à deficiência hídrica, existem umas nocivas às plantas (como o desbalanço metabólico na planta com aumento da produção de Espécies Ativas de Oxigênio–EAO, segundo Noctor *et al.*, 2002), e que podem levar à morte da planta, e outras respostas que são favoráveis (como o aumento da síntese de compostos antioxidantes ácido ascórbico, glutatona, carotenos etc. para a adaptação da planta a estas condições Yordanov, 2000). O estudo destas respostas favoráveis é importante para o aumento da produção agrícola, mesmo nas áreas de máxima produtividade nos EUA (Bruce *et al.*, 2002), mas sobretudo em áreas marginais para a agricultura (Payne, 2000; Winkel *et al.*, 2001). As mudanças climáticas globais (antropogênicas: causadas pelo Homem) que estão ocorrendo causarão também aumento da temperatura do ar e secas mais

freqüentes, conforme discutido por Drake *et al.* (1997) e Sarmiento & Wofsy (1999). Essas respostas favoráveis para a sobrevivência do vegetal sob desidratação, encaradas como mecanismos de adaptação à seca, serão discutidas no próximo capítulo.

Outra ressalva a ser feita é para os termos “adaptação” e “aclimatação”. A aclimatação é considerada uma resposta a uma mudança brusca no ambiente, que não é genética, como por exemplo, quando uma planta, que se desenvolveu em uma atmosfera com a concentração atual de CO_2 ($350 \mu\text{l l}^{-1}$) ou sob temperaturas médias (p. ex.: 25°C), é submetida a uma atmosfera com o dobro de CO_2 ($700 \mu\text{l l}^{-1}$) ou sob altas temperaturas (p. ex.: acima de 35°C), por um curto período de tempo. Neste caso, ela pode apresentar uma mudança de comportamento, que é uma aclimatação (sem controle genético), enquanto a adaptação é uma resposta ao ambiente, mas de caráter genético, quando o vegetal se desenvolve nas condições de estudo (alta concentração de CO_2 atmosférico ou altas temperaturas), contribuindo para a evolução vegetal naquele ambiente (Prof. Long, comunicação pessoal), como por exemplo o ajuste osmótico no sorgo, uma planta que evoluiu em ambiente semi-árido (Harlan, 1992), e que é um caráter herdável (Bolaños & Edmeades, 1991), mas considerado por Guei & Wasson (1993) como de baixa herdabilidade genética.

5.2 • A FALTA D'ÁGUA E A PRODUÇÃO AGRÍCOLA

A população mundial vem aumentando enormemente, principalmente nos países mais pobres e vulneráveis do terceiro mundo, onde a produção de alimentos não é suficiente para manter esta população crescente, por serem áreas marginais para a agricultura, com deficiência de água e de nutrientes (Rockström & Falkenmark, 2000).

A disponibilidade hídrica é considerada o fator climático de maior efeito sobre a produtividade agrícola, sendo o fator que rege a distribuição das espécies, nas diferentes zonas climáticas do globo (Turner e Jones, 1980; Kramer & Boyer, 1995). Na zona tropical (América do Sul, África, Ásia), onde vivemos, a incidência de baixos índices de precipitação é muito maior que nas outras zonas, apesar de existirem regiões secas nestas outras. Segundo Singh (1995), mais de 60% do cultivo de feijão comum em países da América Latina, África e Ásia sofrem redução na produção devido à falta d'água, pois o requerimento hídrico da planta, durante o seu ciclo, não é satisfeito.

Existe uma variabilidade muito grande no grau de tolerância à falta d'água entre espécies (que pode ser visto pelo valor do Ψ_a letal para as plantas, apresentados na Tabela 2) e, mesmo dentro de uma espécie, entre variedades (Ludlow, 1976). Além disto, o estágio de desenvolvimento da planta em que ocorre o estresse também é crítico para a produtividade agrícola (Kramer & Boyer, 1995). Na cultura do milho, por exemplo, as duas semanas que antecedem e que se seguem à formação dos órgãos reprodutivos são o período em que a suplementação de água para a cultura tem maior efeito na sua produtividade. A deficiência hídrica [levando o potencial de água da folha a -1,8 até -2,0 MPa, quando ocorre paralisação da atividade fotossintética do milho (Boyer, 1978)] causa 25% de diminuição da produção quando aplicado antes da floração, 50% quando na floração, e 21% no enchimento de grãos (Waldren, 1983).

Tabela 2 • Valores aproximados de potencial de água letal ($\Psi_{a,l}$) para algumas espécies:

Espécie	$\Psi_{a,l}$ (MPa)
Plantas sensíveis à falta d'água:	
<i>Lycopersicon esculentum</i>	-1,4*
<i>Phaseolus vulgaris</i>	-1,5
<i>Vitis vinifera</i>	-1,5*
<i>Citrus spp.</i>	-2,0
<i>Zea mays</i> (já existem genótipos um pouco mais tolerantes)	-2,0
Plantas moderadamente tolerantes à falta d'água:	
<i>Helianthus annuus</i>	-2,2*
<i>Vigna unguiculata</i>	-2,5
<i>Glycine max</i>	-2,5*
<i>Hordeum vulgare</i>	-3,0*
<i>Triticum aestivum</i>	-3,0*
Plantas mais tolerantes à falta d'água:	
<i>Pennisetum glaucum</i>	-3,0
<i>Arachis hypogea</i>	-3,5*
<i>Cajanus cajan</i>	-3,5
<i>Sorghum bicolor</i>	-3,5*
<i>Gossypium hirsutum</i>	-3,5
<i>Prosopis juliflora</i>	-4,5*
<i>Beta vulgaris</i>	-5,0*
<i>Atriplex nummularia</i>	-6,0
<i>Atriplex halimus</i>	-6,0
<i>Acácia harpophylla</i>	-6,0*

* Dados apresentados por Boyer (1978).

Para complicar mais, no campo de cultivo, as plantas são expostas a vários estresses ambientais, como temperaturas altas, falta d'água, alta radiação luminosa e deficiência de nutrientes, causando um estresse múltiplo na planta (Yordanov, 2000). Dentre estes diferentes estresses, a falta de nutrientes também é freqüente em regiões sujeitas à falta d'água, e ambos os estresses afetam significativamente a produtividade agrícola (Payne, 2000). Na América tropical, em torno de 70% dos solos são ácidos e inférteis, e, no mundo, 25% da área cultivável tem também problemas químicos graves (Marschner, 1995). Portanto, nessas áreas, consideradas marginais, as plantas cultivadas sofrem freqüentemente de um estresse múltiplo, por falta d'água e de nutrientes (Winkel *et al.*, 2001), e a associação destes dois fatores causa um efeito mais acentuado na redução da produtividade agrícola (Kramer & Boyer, 1995). A deficiência de água vai afetar a absorção e assimilação de nutrientes e a falta de nutrientes vai afetar a fotossíntese [a deficiência de N diminui a síntese de proteínas e, conseqüentemente, da Rubisco, enzima-chave na assimilação do CO₂, que corresponde a mais de 50% das proteínas solúveis foliares, segundo Leegood, (1996)] e a resposta do vegetal à falta d'água (Schrader, 1985). Segundo Kramer & Boyer (1995), a deficiência em nitrogênio diminui a condutividade hidráulica e absorção de água, assim como a produção de ABA (que induz o fechamento estomático na parte aérea) pelas raízes e o déficit de água causado na parte aérea induz fechamento estomático mais cedo. Ainda segundo estes autores, a deficiência em fósforo afeta o balanço entre ABA e citocininas, afetando também a abertura estomática. Segundo Schulze (1991), um vegetal com alto suprimento de nutrientes mantém os estômatos abertos sob valores de potencial de água no solo mais baixos que plantas mal supridas.

Assim, o aumento da eficiência de uso de água (EUA), associado com o de nutrientes (EUN), dos vegetais [para os nutrientes, o mais crítico é o N, pois após o C, O e H, obtidos do CO₂ e da H₂O, o N é o quarto elemento em importância na composição de um vegetal (Marschner, 1995)], precisa ser um dos novos alvos do melhoramento vegetal, que deve ser conduzido em ambientes com limitação de água e de nutrientes (Duncan & Baligar, 1991; Harlan, 1992).

5.3 • O QUE É SECA?

Segundo Passioura (1997), os puristas têm uma visão muito simplista do conceito do termo para uso na agricultura, pois insistem que a seca é um termo meteorológico, que se refere somente a um período de tempo

em que a precipitação não é suficiente para manter o potencial de evapotranspiração de um campo cultivado; isto é, quando ocorre um déficit de volume de chuvas em relação ao requerimento hídrico da cultura (Rockström & Falkenmark, 2000), e o balanço hídrico da cultura se torna negativo (Angelocci, 2002). Uma definição mais apropriada seria que a seca é uma circunstância, na qual as plantas sofrem redução do seu crescimento ou produtividade, devido à insuficiência de suprimento de água, ou a um grande déficit de umidade do ar, mesmo com um suprimento de água adequado do solo (Passioura, 1997). Deve-se ressaltar que o tempo necessário para que a insuficiência de suprimento de água, por chuva ou irrigação, cause estas reduções no crescimento vai depender do tipo de planta, da capacidade de retenção de água no solo e das condições atmosféricas, principalmente DPV e temperatura, que controlarão a taxa de evapotranspiração. Em relação à planta, a seca pode ser vista como um estresse multidimensional (Yordanov *et al.*, 2000), que afeta as plantas em vários níveis de sua organização, e a resposta à seca, ao nível da planta e do dossel, é complexa porque reflete a integração dos efeitos do estresse e das respostas da planta, sob todos os níveis da organização da planta, integrados no espaço e no tempo (Blum, 1997).

A seca é considerada um estresse ambiental que, segundo Larcher (2000), é um estado em que a demanda de energia pela planta para sua manutenção (sobrevivência) é maior que a produção, o que leva a uma desestabilização inicial das funções da planta, seguida por uma normalização e indução dos processos fisiológicos de adaptação. O estresse tem elementos construtivos e destrutivos, e é um fator de seleção e uma força motriz para incremento da tolerância e evolução adaptativa da planta. Por outro lado, um estresse suave pode ativar o metabolismo celular e aumentar a atividade fisiológica da planta (Boyer, 1978) sem causar nenhum dano, mesmo em longo prazo, sendo, portanto, favorável à planta (Lichtenthaler, 1996), como se vê frequentemente no aumento de A , para uma ligeira diminuição do Ψ_a da folha (Figura 10). Por exemplo, num campo irrigado, um dessecação parcial das raízes tem levado a uma maior EUA, sem efeitos na produtividade (Stoll *et al.*, 2000).

Os efeitos da seca são bastante variáveis em função da sua intensidade (duração da deficiência hídrica: veranico ou seca prolongada), da velocidade de imposição do estresse e do estágio de desenvolvimento da planta em que a seca ocorre (Kramer & Boyer, 1995). Em trigo, por exemplo, uma deficiência hídrica leve causa precocidade de floração enquanto uma seca severa causa retardo na floração (Blum, 1997).

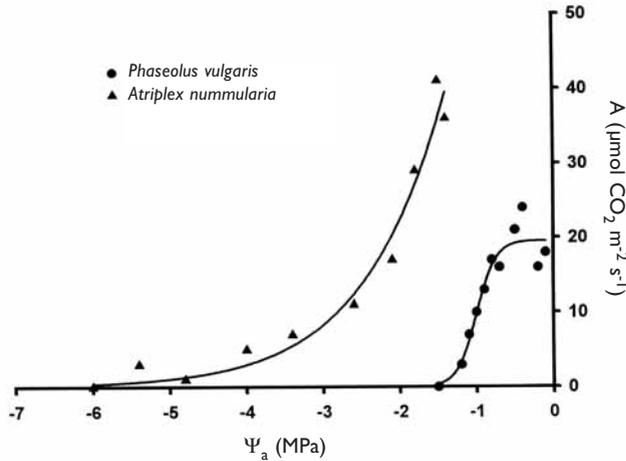


Figura 10 • Relação entre a taxa de assimilação de CO₂ (A) e o potencial de água da folha (Ψ_a) de duas espécies, uma sensível à seca, *Phaseolus vulgaris*, e outra tolerante à seca, *Atriplex nummularia*

5.4 • COMO ESTUDAR AS RESPOSTAS DA PLANTA À SECA?

Uma gama de condições ambientais pode ser usada para a pesquisa sobre as respostas dos vegetais submetidos à seca, com variação para o controle da precisão do tratamento de estresse por falta d'água, e a correlação com a produtividade agrícola, nas regiões sujeitas à seca (Harlan, 1992; Rockström & Falkenmark, 2000). Os ambientes de estudo, de uma maneira geral, podem ser: em placas de Pétri, no laboratório; em solução nutritiva ou em potes com terra, em câmara de crescimento ou em estufas; no campo, em centros de pesquisa (havendo variações na forma do tratamento de seca: cultivo com e sem irrigação, em clima árido ou úmido; cultivo dependente de chuvas; cultivo protegido nos períodos críticos etc.); ou no campo nas regiões-alvo para a exploração agrícola. Além disto, pode-se estudar em pequena escala (poucos genótipos) ou larga escala (muitos genótipos). Nesses ambientes, a precisão da medida e o controle ambiental aumentam do campo para a placa de Pétri, mas a correlação com a produtividade da cultura aumenta no sentido contrário, da placa de Pétri para o campo (Bruce *et al.*, 2002). Isto ocorre porque, por exemplo, o volume de raízes [que é menor nas plantas cultivadas em potes que no campo, visto que o crescimento radicular é plástico, e

depende do volume de solo disponível (Kramer & Boyer, 1995)] e o de solo a ser explorado, com o conseqüente volume de água disponível, é menor em experimentos em potes que no campo. Por isto, as plantas atingem o potencial crítico muito mais rapidamente em pote que no campo (Pimentel *et al.*, 1999c), como se vê nas Figuras 11 e 12 e, muitas vezes, em experimentos em potes, as plantas não têm tempo hábil para expressar os seus mecanismos de adaptação à seca (Hanson & Hitz, 1982). Na Figura 12 se nota que, mesmo após 17 dias sem suplementação de água no campo, o Ψ_a da folha de caupi não foi menor que -1,2 MPa, enquanto em potes o Ψ_a da folha de caupi, atingiu valores de -2,3 MPa em apenas 12 dias (Pimentel & Hébert, 1999).

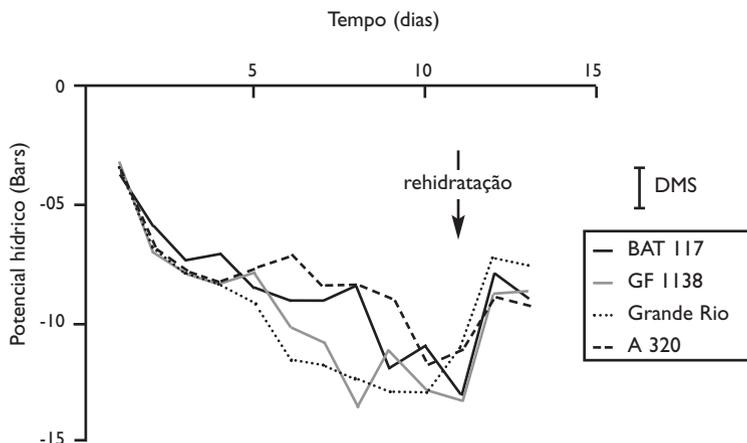


Figura 11 • Potencial de água da folha (em bars) de plantas de feijão cultivadas em potes de 10 l, durante 11 dias de desidratação e dois de reidratação

A velocidade de imposição do estresse (que é proporcional ao volume de água e, conseqüentemente, de solo, disponível para a planta) por falta d'água, é, portanto, crucial para o estudo da resposta de plantas. Segundo Sinclair & Ludlow (1986), à medida que o suprimento de água diminui, a planta passa por três estádios de desidratação: no estágio I, a transpiração se mantém como para uma planta bem suprida em água, até que o conteúdo em água disponível no solo seja reduzido a 50%, e a absorção de água não mais se iguale à demanda da transpiração; no estágio II, a transpiração começa a ser menor que o seu potencial, começando a haver fechamento estomático; e, no estágio III, os

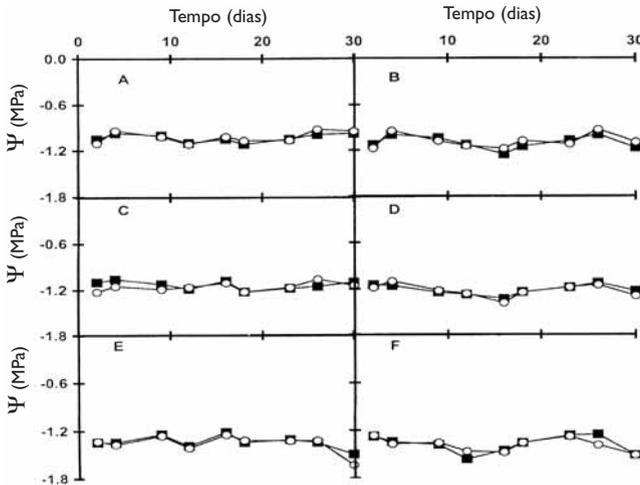


Figura 12 • Potencial de água da folha em genótipos de feijão caupi, cultivados no campo com 3 níveis de irriga o (100%, 82% e 44% ETm), e com (B, D e F) ou sem (A, C e E) 17 dias de desidrata o e 13 de reidrata o

estômatos estão completamente fechados, e toda perda de água da planta para a atmosfera ocorre pela cutícula (Figura 13). A sobrevivência das plantas, no final do est dio III, vai depender, em parte, de sua tolerância   desseca o, que   uma característica existente em sementes, fungos e esporos e musgos (Hoekstra *et al.*, 2001), mas rara na maioria das plantas cultivadas (Blum, 1997).

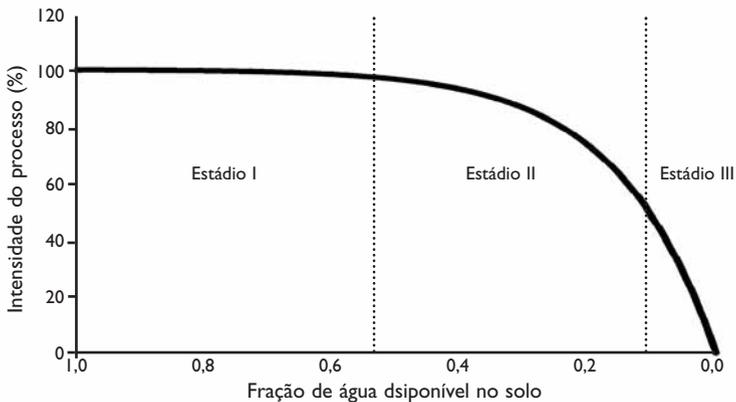


Figura 13 • Os 3 estádios de desidrata o, segundo Sinclair & Ludlow (1986)

No campo, a imposição do estresse, por falta d'água, ocorre lentamente, devida principalmente a um fluxo noturno de água das camadas de solo mais profundas para as superficiais, onde a maioria das raízes se encontra (Tardieu & Simonneau, 1998). A gradual imposição do déficit hídrico é importante para que os mecanismos de tolerância à seca sejam ativados na planta (Hanson & Hitz, 1982), permitindo discriminar melhor uma variação genotípica. No trabalho de Sinclair & Ludlow (1986), identificando os três estádios de desidratação, as plantas foram cultivadas em sacos plásticos, com 0,13m de diâmetro e 0,14 e 2,3m de altura, cobertos com plástico, para evitar a evaporação direta da água do solo para a atmosfera; e neste caso, *Vigna unguiculata* e *Cajanus cajan* levaram 31 e 43 dias, respectivamente, para atingir o potencial de água crítico, tendo assim ocorrido uma imposição do estresse gradual, como ocorreria com as plantas no campo (Pimentel *et al.*, 1999c).

Ismail *et al.* (1994) e Ray & Sinclair (1998), entre outros autores, demonstram que, apesar da quantidade de ABA produzida nas raízes e a relação entre a taxa de transpiração e o conteúdo de água no solo não variarem para diferentes tamanhos de potes, há redução significativa da massa seca da parte aérea e do volume de água transpirada, em potes de menor volume. Outrossim, Lawlor & Cornic (2002) comentam sobre dois tipos de comportamento da taxa de assimilação de CO₂ (A) de plantas sob deficiência hídrica: no tipo 1, a resposta é próxima àquela apresentada por Sinclair & Ludlow (1986) e, no tipo 2, a resposta é um decréscimo quase que linear de A. Esses autores não comentam sobre o volume de potes usados para as respostas dos tipos 1 e 2, mas provavelmente a resposta do tipo 2 ocorre em potes de menor volume que a resposta do tipo 1, e talvez as plantas que apresentaram a resposta do tipo 2, se fossem cultivadas em potes maiores, poderiam apresentar uma resposta do tipo 1.

Portanto, muito cuidado deve ser tomado ao extrapolar resultados obtidos em potes, por exemplo, para o campo, pois em potes o crescimento radicular é restringido devido ao impedimento físico do fundo do pote, independentemente da disponibilidade de água existente (Masle & Passioura, 1987). Esta redução é causada, em parte, pela produção de etileno na raiz provocando desbalanço de ABA e etileno no xilema, reduzindo o crescimento da raiz, mas também da parte aérea (Hussain *et al.*, 1999).

5.5 • QUAIS AS RESPOSTAS À SECA ESTUDAR?

Em qualquer processo que requeira um número de fatores independentes agindo simultaneamente, como a fotossíntese e conseqüente acúmulo de massa seca, a velocidade do processo será regida pelo fator em menor intensidade ou mais lento, conceito que é conhecido como lei de Blackman (pesquisador do século XIX), segundo Boyer (1978). Este conceito se aplica muito bem à produtividade agrícola e ao efeito da seca nesta, pois praticamente todos os aspectos do crescimento vegetal são afetados pela falta d'água [do nível microscópico ao macroscópico (Blum, 1997)], sobretudo o acúmulo de matéria seca, que responderá pela produção vegetal (Hsiao, 1973; Boyer, 1978; Kramer & Boyer, 1995; Passioura, 1997). A resposta da planta à seca é caracterizada por mudanças fundamentais na relação da célula com a água, nos seus processos fisiológicos, na estrutura de membranas e de organelas celulares, além das mudanças morfológicas e fenológicas da planta, alterando a relação do seu dossel com o ambiente. Ao nível da planta, uma resposta usual ao estresse, antes mesmo de haver variação no conteúdo em água dos tecidos, é uma diminuição do crescimento, que é associado com alterações no metabolismo de carbono e de nitrogênio (Yordanov *et al.*, 2000; Lawlor, 2002).

As respostas da planta à seca, discutidas a seguir, serão apresentadas em função dos estádios de estresse por falta d'água propostos Sinclair & Ludlow (1986), e descritos acima. A discussão se baseará muito na resposta da atividade fotossintética da planta, que é o processo central, mas não o único, para a produtividade vegetal (Boyer, 1978).

Estádio I (taxa de transpiração diária equivalente à de plantas hidratadas)

Hoje já sabemos que um ligeiro dessecação do solo causará uma maior concentração de ABA no xilema (Hartung *et al.*, 2002) e alteração da Lp da raiz e do xilema (Steudle, 2000; Javot & Maurel, 2002), que poderão induzir o fechamento estomático nas horas mais quentes do dia (Tardieu & Simonneau, 1998), e a diminuição do crescimento na folha (Hsiao, 1973; Yordanov *et al.*, 2000; Chaves *et al.*, 2002). Enquanto isso, a expansão celular da raiz pode se manter, pois o ABA, que foi acumulado na raiz, impede a produção de etileno nesta (Sharp & LeNoble, 2002), alterando a elasticidade de parede das células da raiz, permitindo o crescimento radicular (Hsiao & Xu, 2000).

Em plântulas de milho, o acúmulo de ABA endógeno, quando o Ψ_a do solo ou do ar diminui, atua inibindo o crescimento da parte aérea e estimulando o crescimento de raízes, mantendo o turgor na zona de crescimento de raízes (Spollen et al, 2000; Ribaut e Pilet, 1991), principalmente em raízes nodais e mais profundas (Davies et al, 1990). Por outro lado, o acúmulo de citocininas e auxinas na parte aérea protege o aparato fotossintético e a ultraestrutura cloroplástica, diminuindo o efeito da falta d'água e permitindo uma recuperação mais rápida, na reidratação (Kramer & Boyer, 1995; Yordanov *et al.*, 2000). Dentre os efeitos do déficit hídrico na parte aérea, a expansão foliar é o processo mais sensível à falta d'água (Hsiao, 1973; Henson, 1985; Blum, 1997) e a diminuição da área foliar é uma resposta freqüente à deficiência hídrica, que afetará o potencial fotossintético e produtivo da planta, principalmente nos estudos feitos em potes (Teare & Peet, 1983). Além da diminuição da expansão foliar, uma ligeira diminuição da disponibilidade de água induz o fechamento estomático, principalmente nas horas de maior temperatura e DPV do ar, mas o volume de água transpirada durante o dia pode não ser afetado, pois a planta abre mais os estômatos nas horas menos quentes, para implementar a assimilação de CO_2 total durante o dia (Pimentel *et al.*, 1999b). Segundo Tardieu & Simonneau (1998), o comportamento estomático ao longo do dia pode servir para classificar as plantas em dois tipos: aquelas com comportamento isohídrico, que mantêm os estômatos abertos e têm o Ψ_a diminuído à tarde, como o milho e o tremoço; e aquelas com comportamento anisohídrico, que fecham os estômatos e mantêm o Ψ_a da folha alto e constante à tarde, como o feijão, a soja e o girassol. Segundo esses autores, nas espécies anisohídricas o valor do Ψ_a da folha é uma conseqüência do controle estomático e nas isohídricas é o inverso, o que mostra uma variabilidade no grau de sensibilidade dos estômatos ao ABA e/ou à tensão de água no apoplasto foliar. Contudo, estudos mais recentes detectaram estes dois tipos de comportamento, isohídrico e anisohídrico, em duas cultivares de videira de origens diferentes, uma méstica e outra de ambiente mediterrâneo, e a diferença de comportamento foi atribuída às diferenças de L_p dos ramos e pecíolo e não da folha (Schultz, 2003); e, sendo assim, não se pode fazer esta classificação por espécie, mas sim pela arquitetura hidráulica das plantas, em função do seu ambiente de origem.

Com o fechamento estomático [que por si só já causa aumento da temperatura da folha (Idso *et al.*, 1986)] e as temperaturas mais altas, e, por

conseqüência, com o mais alto DPV, no meio-dia, pode haver fotoinibição, pois este é também o período de maior incidência de radiação luminosa (Björkman & Powles, 1994). A fotoinibição, que ocorre tanto em plantas C_3 quanto em plantas C_4 (Long *et al.*, 1994), é a redução do potencial fotossintético, reversível ou não, quando a atividade dos fotossistemas, com produção de poder redutor ($NADPH_2$) e de energia química (ATP) são máximos, devido à alta luminosidade, mas a taxa de assimilação de CO_2 (fase escura da fotossíntese) é reduzida por um estresse ambiental (Ludlow & Powles, 1988). Por exemplo, o fechamento estomático, associado com altas temperaturas, pode reduzir a assimilação do CO_2 , mais sensível, enquanto a atividade dos fotossistemas é mais tolerante (Chaves, 1991). Assim, o consumo do poder redutor e energia química, que foram produzidos pelos fotossistemas, é diminuído, devido à menor taxa de assimilação de CO_2 (Long *et al.*, 1994). Neste caso, a fotólise da água e o transporte de elétrons nos centros de reação dos fotossistemas continuam a ocorrer, com a alta radiação luminosa, mas a cadeia de transporte de elétrons está “fechada”, pois os compostos estão reduzidos, sem poder receber os elétrons liberados na fotólise da água. Estes elétrons podem então ser transferidos para EAO, que, por sua vez, causarão oxidação, reversível ou não, de compostos dos fotossistemas, principalmente nos centros de reação do PS II, na proteína D1 (Maxwell & Johnson, 2000). A fotoinibição diminui cerca de 10% do potencial produtivo das culturas (Long *et al.*, 1994) e, a medida que o estresse por falta d’água se intensifica, com o passar dos dias, a fotoinibição é aumentada e os efeitos podem se tornar irreversíveis (Björkman & Powles, 1994).

Estádio II (taxa de transpiração menor que a de plantas hidratadas)

Neste estágio II, com redução da abertura estomática e, conseqüentemente, da transpiração, já vai haver redução da atividade fotossintética (que afetará o acúmulo de massa seca), pela menor área foliar (Blum, 1997), mas também pela diminuição da disponibilidade de CO_2 , devido ao fechamento estomático, que já diminui a fotossíntese (Chaves, 1991; Tang *et al.*, 2002). Contudo, sobre a superfície de uma folha, formam-se “auréolas”, onde os estômatos se mantêm mais abertos (Scheuermann *et al.*, 1991), assimilando mais CO_2 . Com a restrição mais severa de água, o potencial de turgescência da folha se anula, paralisando, além da expansão da área foliar, a biossíntese de proteínas e a atividade de enzimas como a nitrato redutase (Yordanov *et al.*, 2000; Quadro 2).

Quadro 2 • Respostas de plantas à deficiência hídrica**Ligeira deficiência hídrica (Estádio I*, sem redução na transpiração e que pode ocorrer, mesmo em plantas irrigadas, quando o DPV do ar é alto):**

Alteração no conteúdo de fitormônios (↑ ABA, ↓ citocininas e auxinas);
 ↓ expansão foliar; ↓ potencial de turgescência; ↓ biossíntese protéica;
 ↑ fotoinibição.

Deficiência hídrica moderada (Estádio II*, com redução da transpiração):

↓ Condutância estomática (g_s); ↑ L_p da raiz (atividade das aquaporinas e fluxo apoplástico); ↓ taxas de assimilação fotossintética e de transpiração (pela g_s);
 ↓ atividade da nitrato redutase, da sacarose fosfato sintetase (SFS), e da invertase ácida (IA); ↑ conteúdo de carboidratos solúveis e aminoácidos livres (prolina), (concentração passiva e ajuste osmótico e/ou de elasticidade de parede);
 ↓ conteúdo de ascorbato (vit. C), tocoferol (vit. E), xantofilas e outros carotenos, ATP, NADPH₂ e RuBP; ↓ Taxa de assimilação fotossintética, pela atividade enzimática (regeneração da RuBP e atividade da Rubisco) e dos fotossistemas (atividade da ATPase, mas na pré-floração, os fotossistemas são mais sensíveis).

Deficiência hídrica severa (Estádio III*, transpiração mínima, via cutícula):

↓ L_p da raiz; ↓ fluxo de carboidratos para o dreno a ser colhido; ↑ atividade de enzimas hidrolíticas, como as α -amilase, proteases e lipases e degradação de galactolipídeos das membranas; ↓ atividade das peroxidases (superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, glutatona redutase e catalase); ↓ conteúdo de amido, de proteínas solúveis e, por último, de clorofilas; ↑ conteúdo de espécies ativas de oxigênio (EAO): peróxido, oxigênio singleto e hidroxila; e ↑ liberação de eletrólitos.

Deficiência hídrica letal:

↑ Descompartimentalização (desarranjo de membranas, principalmente dos cloroplastos e das mitocôndrias, com perda da integridade membranar).

* Segundo Sinclair & Ludlow (1986).

Respostas na assimilação de CO₂ – O fechamento estomático é considerado a primeira linha de defesa contra o dessecação (Chaves, 1991), mesmo antes de ocorrer diminuição do conteúdo de água da folha (Yordanov *et al.*, 2000). Contudo, segundo Zwieniecki & Holbrook (2000) e Cochard *et al.* (2002), o principal objetivo do fechamento estomático é evitar a cavitação e uma catastrófica falha do sistema de condução de água, em vez de objetivar apenas a redução das perdas de água pela transpiração, visto que os estômatos podem responder diretamente ao aumento da tensão de água no xilema, fechando-se (Netting, 2000). Sob seca, segundo Lauer & Boyer (1992), a limitação da fotossíntese pelo fechamento estomático é

pequena, e menor que o efeito estomático na transpiração, sendo que a maior limitação é metabólica (Ghannoum *et al.*, 2003). Tang *et al.* (2002) ressaltam também que a variação da condutância estomática (g_s) é proporcional à da transpiração, mas esta proporcionalidade não é uniforme na folha.

Atualmente, existem duas linhas de pesquisa sobre as causas da diminuição da atividade fotossintética sob desidratação. Os estudos da equipe de Boyer mostram que a limitação da atividade fotossintética é mais um efeito metabólico [Ghannoum *et al.*, (2003) também confirmam isto], e a C_i medida se mantém alta e mesmo aumenta com a seca, enquanto as equipes de Lawlor, Cornic e Chaves afirmam que a limitação da fotossíntese é principalmente devido à menor difusão de CO_2 para o interior da folha (menor C_i e disponibilidade de CO_2 para a Rubisco), causada pelo fechamento estomático (Ort *et al.*, 1994), com menor limitação metabólica, que ocorreria só com o estresse severo (Chaves *et al.*, 2002; Cornic, 2000; Lawlor & Cornic, 2002). Contudo, o próprio Lawlor (1976) mostra que o ponto de compensação de CO_2 aumenta com a diminuição do Ψ_a da folha, indicando um aumento das reações de descarboxilação, à fotorespiração e respiração mitocondrial, o que aumentaria a C_i .

Os resultados da equipe de Boyer, obtidos desde o início da década de 1970 (Boyer, 1970), mostram que, com o dessecamento dos tecidos, o transporte de elétrons, a fotofosforilação e a síntese de ATP são reduzidos, o que por sua vez diminui a capacidade de regeneração da RuBP. Lawlor (2002), Parry *et al.* (2002) e Flexas & Medrano (2002) confirmam essa redução da síntese de ATP, mesmo em um estresse moderado, que por sua vez diminui a capacidade de regeneração da RuBP. Contudo, Lawlor (2002) e Ort *et al.* (1994) argumentam que o conteúdo de ATP não é fator limitante para a assimilação do CO_2 .

Quanto à atividade e quantidade da Rubisco, há resultados mostrando uma diminuição de quantidade e atividade desta enzima (Yordanov *et al.*, 2000; Parry *et al.*, 2002), e em outros estudos não há variação nesta e na FosfoEnol Piruvato carboxilase (Ghannoum *et al.*, 2003). *In vivo*, as condições metabólicas e físico-químicas do citoplasma são alteradas (Vieira da Silva, 1976), e podem afetar esses processos (que são medidos, na maioria das vezes, *in vitro*). Com a diminuição do conteúdo de água na célula, ocorrem distorções da parede celular, ruptura e lise da plasmalema, dos cloroplastos, mitocôndrias e de outras organelas (podendo chegar ao colapso dos espaços intercelulares e lise da célula), reduzindo assim a atividade das reações associadas às membranas, como a atividade

bioquímica da fotossíntese (Tang *et al.*, 2002). Segundo Pham Thi & Vieira da Silva (1975) os cloroplastos e mitocôndrias são organelas muito sensíveis à seca, sofrendo ruptura e lise de suas membranas, com perda da sua integridade, enquanto os peroxissomas são menos sensíveis, quando ocorre déficit hídrico mais severo. Portanto, os resultados de Lauer & Boyer (1992), Tang *et al.* (2002), Flexas & Medrano (2002) e Ghannoum *et al.* (2003) demonstram que o fechamento estomático reduz um pouco a assimilação de CO₂, no estágio II, que é mais afetada por uma inibição metabólica do processo. Ghannoum *et al.* (1993) demonstram em quatro plantas C₄ que a assimilação de CO₂ e a eficiência quântica do PSII são sensíveis, mesmo a uma deficiência hídrica moderada, independente do suprimento de CO₂ (ou da g_s). Lauer & Boyer (1992) mediram *in situ* a C_i em plantas sob desidratação, e não detectaram redução desta sob seca, o que mostra que a limitação da fotossíntese sob seca não pode ser estomática. As afirmações de Chaves *et al.* (2002), Cornic (2000) e Lawlor & Cornic (2002) sobre o controle estomático da fotossíntese sob seca são baseadas nos valores de C_i calculados e não medidos.

Quanto à atividade dos fotossistemas, apesar da seca diminuir a fotofosforilação pela redução na síntese de ATP [atividade da ATPase, segundo Lawlor (2002) e Flexas & Medrano (2002)], alguns resultados mostram que a liberação de O₂ é bastante tolerante à seca, e só é afetada em um conteúdo de água abaixo de 40% (Chaves, 1991; Yordanov *et al.*, 2000). Porém, outros estudos mostram uma redução neste processo sob estresse moderado (Tang *et al.*, 2002; Flexas & Medrano, 2002), especialmente no início do período reprodutivo (Pimentel *et al.*, 1999a). O efeito da falta d'água, quando associado com alta radiação luminosa (quando há seca, em geral, ocorre também alta radiação luminosa), ocorre principalmente no centro de reação do PSII, causando a degradação das proteínas CP43 e D1 (Yordanov *et al.*, 2000). Ghannoum *et al.* (2003) sugerem que a menor sensibilidade da atividade do PS II pode ser devida ao desvio de elétrons da cadeia de transporte para a reação de Mehler, cuja atividade é aumentada sob falta d'água (Chaves *et al.*, 2002) e pela maior atividade fotorrespiratória sob seca (Noctor *et al.*, 2002), que consome ATP e NADPH₂. Contudo, o ciclo das xantofilas, discutido abaixo, parece ser um dos mais importantes mecanismos de dissipação de excesso de energia do PS II (Long *et al.*, 1994; von Caemmerer, 2000).

Assim, a falta d'água mais severa diminui o transporte de elétrons e a fotofosforilação, pela perda da atividade de reações associadas às membranas, diminuindo a síntese de ATP e, conseqüentemente, a regeneração da RuBP,

diminuindo o conteúdo de trioses-P, frutose-6P e RuBP, e diminuindo a atividade da Sacarose Fosfato Sintetase (SFS), mas não a atividade da Frutose-1,6- Bisfosfatase e da Rubisco, segundo Tang *et al.* (2002).

Respostas na produção de EAO e nos sistemas antioxidantes – Sob condições ótimas de hidratação, as folhas são ricas em enzimas e compostos antioxidantes, e podem conviver com as formas ativas de O_2 , as EAO. Quando ocorre falta d'água, a atividade dos sistemas enzimáticos e dos compostos antioxidantes de defesa das plantas é diminuída (Chaves *et al.*, 2002), com aumento da concentração das EAO (radicais peróxido, oxigênio singlete e hidroxilas), segundo Chaves *et al.* (2002) e Noctor *et al.* (2002), aumentando o efeito fotoinibitório (Yordanov *et al.*, 2000; Flexas & Medrano, 2002).

Com a imposição da deficiência hídrica, a concentração de compostos antioxidantes, como o ascorbato, a glutationa, o tocoferol e outros carotenóides (incluindo-se aqui as xantofilas) diminui, o que aumenta mais a concentração de EAO livres na célula, que vão causar peroxidação de lipídeos e outros compostos (Noctor *et al.*, 2002; Yordanov *et al.*, 2002). Além disso, os principais sistemas enzimáticos de desintoxicação dessas EAO, que envolvem a ação de Superóxido Dismutase (SOD), peroxidases (POX) e redutases, retirando elétrons das EAO, com consumo de poder redutor, são alterados. Com a falta d'água, a atividade dessas enzimas é diminuída, tais como a da SOD, da POX e, especialmente, a da ascorbato peroxidase (APOX), mas também da dehidroascorbato redutase (DHAR) e da glutationa redutase (GR) e também da catalase (CAT), segundo Yordanov *et al.* (2002). As enzimas APOX, DHAR e GR são enzimas-chaves no ciclo do ascorbato/glutationa nos cloroplastos, que é associado à reação de Mehler, e que consome o H_2O_2 produzido nesta reação (von Caemmerer, 2000). Já a catalase é uma enzima localizada no peroxissoma, consumindo o H_2O_2 produzido na fotorrespiração, protegendo o citoplasma. Por outro lado, o H_2O_2 produzido no citoplasma da célula interage com o ABA, nas células-guarda, para o controle da abertura estomática (Schroeder *et al.*, 2001), podendo ser considerado um mensageiro intracelular para iniciar as respostas à deficiência hídrica (Noctor *et al.*, 2002).

Outro importante sistema antioxidante dos cloroplastos, sendo considerado o principal para a dissipação de energia do PS II (para evitar o desvio de elétrons produzidos na fotólise da água, formando EAO, e a conseqüente fotoinibição), sob seca, é o ciclo das xantofilas, em que a violoxantina é transformada em anteroxantina e depois epoxidada a zeaxantina, consumindo elétrons durante o dia, enquanto à noite a zeaxantina

é de-epoxidada a violoxantina (Long *et al.*, 1994), diminuindo assim o efeito fotoinibitório causado pela seca (von Caemmerer, 2000).

Respostas no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos – A concentração de carboidratos solúveis (sacarose, frutose e glicose, principalmente) e insolúveis (amido) nos tecidos, para uso na manutenção e crescimento destes, é considerada como reguladora tanto da fotossíntese quanto da respiração (Farrar, 1993). A concentração de açúcares no citoplasma (controlada pela demanda em outros tecidos) vai regular a taxa de assimilação de CO_2 e/ou a síntese ou hidrólise do amido, ambos no cloroplasto (Leegood, 1996). Por exemplo, o início do desenvolvimento do embrião no órgão reprodutivo causa aumento da taxa de assimilação de CO_2 nas folhas-fontes desse órgão, através da exportação de auxinas, oriundas do órgão reprodutivo, para elas, para garantir um fluxo de fotoassimilados para manter o desenvolvimento do embrião (Westgate & Boyer, 1985; Schussler & Westgate, 1985), o que torna esta fase de desenvolvimento muito sensível à seca (Bascur *et al.*, 1985; Pimentel *et al.*, 1999a,b). Provavelmente, sob desidratação, os níveis de carboidratos no citoplasma, que são alterados (Pimentel, 1999), vão ativar as respostas da planta à deficiência hídrica e/ou participar delas, como no ajustamento osmótico, que é feito somente por algumas plantas (Morgan, 1994). Com a desidratação, há uma diminuição do conteúdo de amido na célula, sobretudo no estágio II de desidratação, com a redução na fotossíntese, e aumento de açúcares solúveis (Rossiello *et al.*, 1981b; Pimentel, 1999), devido à paralisação no crescimento celular e na síntese de sacarose (Vassey & Sarkey, 1989) para exportação.

Como discutido anteriormente, existem dúvidas sobre as causas da redução da concentração de ATP e de RuBP no cloroplasto sob desidratação, que pode ser causada pela redução da atividade da ATPase cloroplástica (Lawlor, 2002; Lawlor & Cornic, 2002) ou diminuição da entrada de Pi no cloroplasto, via o antiporte triose-P/Pi, devido ao acúmulo de açúcares no citoplasma, sem liberação de Pi (Leegood, 1996), pois a atividade da Sacarose fosfato sintetase é diminuída sob déficit de água, assim como a síntese de amido (Vassey & Sarkey, 1989). Sob seca, as atividades da Rubisco, G3P desidrogenase, Ru5P cinase e FruBP sintetase também são diminuídas em alguns estudos (Chaves *et al.*, 2002; Flexas & Medrano, 2002; Parry *et al.*, 2002), diminuindo a capacidade bioquímica de assimilação e de utilização de CO_2 (Lauer & Boyer, 1992; Tang *et al.*, 2002); mas, em outros estudos, a atividade dessas enzimas não é alterada (Yordanov *et al.*, 2000).

Com a imposição do estresse e redução da assimilação de CO_2 , o amido de reserva começa a ser hidrolisado, para suprir a respiração de manutenção (Kramer & Boyer, 1995) e, com isto, haverá maior acúmulo de carboidratos solúveis, aminoácidos [devido ao aumento da proteólise (Roy-Macauley *et al.*, 1992)] e ácidos orgânicos (Hanson & Hitz, 1982). Além destes compostos orgânicos, íons inorgânicos (K^+ , NO_3^- , Cl^- etc.) são acumulados ativamente, promovendo, junto com os íons orgânicos citados anteriormente, o ajuste osmótico, em plantas que apresentam esta resposta (Morgan, 1984).

Quanto ao metabolismo de proteínas, no estágio I, já ocorre paralisação da biossíntese proteica (Kramer & Boyer, 1995) e, no estágio II, começa a haver proteólise (Roy-Macauley *et al.*, 1992), o que causa aumento do conteúdo de aminoácidos livres nos tecidos e redução no conteúdo protéico (Pimentel, 1999). Para as enzimas do metabolismo fotossintético, como dito anteriormente, existem resultados contraditórios sobre a atividade e quantidade dessas enzimas. Os resultados obtidos são de difícil interpretação, visto que as medidas são feitas *in vitro* e, *in vivo*, as alterações físico-químicas que ocorrem na célula podem alterar essa atividade. Parry *et al.* (2002) assinalam que a menor atividade da Rubisco é devida à ação de inibidores (2-carboxiarabinitol-fosfato-CAIP), que são sintetizados sob desidratação, e com a reidratação a atividade da Rubisco é restabelecida, assim como a da FosfoEnol Piruvato carboxilase (Ghannoum *et al.*, 2003). Outras enzimas do metabolismo de carboidratos têm sua atividade diminuída (Chaves *et al.*, 2002; Vassey & Sharkey, 1989), assim como algumas enzimas dos sistemas antioxidantes, citadas acima.

Contudo, algumas proteínas envolvidas na interação hidrofílica com macromoléculas celulares, para sua estabilização, são sintetizadas, como as deidrinhas (Yordanov *et al.*, 2000), proteínas abundantes na embriogênese tardia (LEAs) e proteínas de choque térmico (HSP), que também têm função na estabilização de outras proteínas citoplasmáticas e membranares (Hoekstra *et al.*, 2001), assim como atuam na recuperação dos danos causados pelos estresses térmico, osmótico e de desidratação (Xiong *et al.*, 2002).

Outros compostos com ação protetora do metabolismo são as poliaminas, putrescina, espermidina e espermina, que atuam mantendo a capacidade de crescimento, principalmente em raízes, sob condições de estresse (Bruce *et al.*, 2002).

O metabolismo de lipídeos é alterado sob desidratação, assim como a associação entre lipídeos e proteínas membranares, a atividade enzimática e de transportadores das membranas, e a composição proteica e lipídica das

membranas (Yordanov *et al.*, 2000). A composição lipídica das membranas celulares, assim como a capacidade de sua síntese de novo (restauração das membranas) com a reidratação, afeta diretamente a capacidade de sobrevivência da célula (Pham Thi *et al.*, 1982). Com o déficit hídrico mais severo, há alteração na composição dos lipídeos membranares, com redução no conteúdo de lipídeos polares e poli-insaturados (Pham Thi *et al.*, 1990), primeiro dos glicolipídeos e, com a severidade do estresse, dos galactolipídeos (Monteiro de Paula *et al.*, 1993), com menor porcentagem do ácido linolênico, associado com aumento da porcentagem do ácido linoleico (Pham Thi *et al.*, 1982). Segundo Monteiro de Paula *et al.* (1993), esse decréscimo no conteúdo lipídico nas membranas de plantas estressadas é devido à redução do processo de biossíntese de lipídeos e aumento dos processos de degradação, pela maior atividade de lipases. A degradação de galactolipídeos poli-insaturados das membranas é, sem sombra de dúvidas, responsável pela desorganização das membranas cloroplásticas, que vai levar à morte das plantas (Viera da Silva, 1976), e os ácidos graxos liberados das membranas vão inibir o transporte de elétrons para a fotossíntese (Yordanov *et al.*, 2000).

A seca e outros estresses causam aumento de RNAm para a síntese da fosfolipase C, responsável pela produção de IP₃ oriundo dos fosfolipídeos das membranas, para iniciar a cascata de reações em resposta ao estresse, induzindo a produção de proteínas LEAs e ativando os canais iônicos; a fosfolipase D parece também estar envolvida na resposta à seca (Xiong *et al.*, 2002).

Estádio III (transpiração quase nula e cuticular)

Quando a atividade das enzimas hidrolíticas, citadas no item anterior, é alta, começa a haver ruptura de membranas, principalmente dos cloroplastos e mitocôndrias, organelas mais sensíveis ao déficit hídrico (Pham Thi & Vieira da Silva, 1975), ocorrendo a descompartimentalização e paralisação dos eventos fisiológicos, como a fotossíntese e respiração, não havendo mais possibilidade de recuperação (Vieira da Silva, 1976).

5.6 • VARIÁVEIS INDICADORAS DA RESPOSTA DA PLANTA AO ESTRESSE POR SECA

Durante algum tempo, se buscava um único teste, se possível de campo, que fosse indicador da tolerância à seca, para discriminar genótipos de uma mesma espécie. Hoje se sabe que isto é impossível devido à

multiplicidade de características fisiológicas, em diferentes órgãos da planta, que conferem a adaptação à falta d'água, que é, por isso, considerada uma característica multigênica (Blum, 1997). Houve uma atenção considerável dedicada ao acúmulo de prolina, visto que alguns resultados mostram uma alta correlação entre este acúmulo e a tolerância à seca (Hsiao, 1973), mas existem resultados contraditórios, em que genótipos mais sensíveis podem acumular mais prolina (Rossiello et al, 1981a). Este acúmulo de prolina é função do aumento do *pool* de aminoácidos livres (mas há também o acúmulo de outros aminoácidos, como o ácido gama-aminobutírico e asparagina), sendo causado por vários fatores: estímulo da sua síntese, a partir de glutamato; diminuição da sua oxidação; queda na sua incorporação em proteínas; e aumento da proteólise. As variações encontradas podem ser devidas ao efeito do estresse ocorrer em etapas distintas do metabolismo da prolina (Hanson e Hitz, 1982).

Não existe uma única variável fisiológica que por si só seja indicativa de tolerância à seca. O ideal é avaliar-se algumas variáveis, que podem ser estudadas em diferentes fases do ciclo, em casa de vegetação e em campo (Passioura, 1997). Pode-se avaliar variáveis fisiológicas de fácil mensuração, com equipamentos mais simples, como: a área foliar e o acúmulo de massa seca na parte aérea, considerados por Blum (1997) como variáveis mais sensíveis ao estresse; o conteúdo relativo em água, o CRA (Pimentel *et al.*, 1990); os potenciais de água (Ψ_a), osmótico (Ψ_π) e de turgescência (Ψ_t) da folha (Bolaños & Edemeades, 1991), com uma bomba de Scholander ou por psicrometria com um microvoltímetro; assim como analisar-se os teores de potássio, de carboidratos solúveis, aminoácidos, amido, proteínas solúveis e outros solutos como ácidos orgânicos etc., em amostras coletadas ao mesmo tempo no campo, para posterior análise no laboratório (Adjahoussou & Vieira da Silva, 1978; Souza & Vieira da Silva, 1992; Pimentel, 1999). Segundo Farrar (1996), o conteúdo de carboidratos nos tecidos, principalmente o de amido e açúcares solúveis, é um sinalizador para induzir ou reduzir a produção e uso das reservas de fotoassimilados na planta, o que os torna excelentes indicadores da atividade metabólica da planta. Outras variáveis indicadoras, com equipamentos mais sofisticados são: o grau de abertura estomática, com um porômetro e/ou trocas gasosas, com um analisador de gases infra-vermelho (Pimentel *et al.*, 1999a,b,c); a discriminação isotópica $^{13}\text{CO}_2$ $^{12}\text{CO}_2^{-1}$, com um espectrômetro de massa (White *et al.*, 1990); a temperatura de folha, com uma pistola à termometria infra-vermelha (Bascur *et al.*, 1985); ou a emissão de fluorescência da folha, com um fluorímetro (Maxwell & Johnson, 2000).

Vale ressaltar que a medição do CRA, apesar de simples, pode ser uma melhor indicadora da intensidade do estresse por seca que o Ψ_a , principalmente em plantas que não realizam ajuste osmótico, como as leguminosas, à parte o guandu e amendoim (Hsiao, 1990). Mesmo em plantas que fazem o ajuste osmótico, como o milho, a simples mensuração do Ψ_π não foi suficiente para discriminar genótipos mais tolerantes (Bolaños & Edemeades, 1991), sendo necessário também avaliar o coeficiente de elasticidade de parede (Neumann, 1995), junto com o Ψ_π , para fazer essa discriminação. A avaliação conjunta do CRA e do Ψ_a se mostra mais indicadora que a avaliação de apenas uma das duas (Hsiao, 1990; Pimentel, 1999).

Uma variável, que tem se mostrado de grande utilidade pela rapidez da mensuração, avaliando assim um grande número de genótipos no campo, e que serve para indicar o efeito de diferentes estresses, como altas e baixas temperaturas, seca e salinidade (Long *et al.*, 1994), é a emissão de fluorescência. Esta medida não é tão precisa como as medidas das trocas gasosas, mas é rapidamente realizada, permitindo estudar-se um grande número de genótipos (Maxwell & Johnson, 2000). A termometria infravermelha é outra variável, com equipamentos que permitem avaliar rapidamente, no campo, um grande número de genótipos, ou para monitoramento à distância, com a aviação agrícola ou por satélite, para indicar a necessidade de irrigação nos campos avaliados.

As avaliações dessas variáveis fisiológicas, em casa de vegetação, são importantes pelo controle ambiental, homogeneização dos tratamentos e avaliação de um maior número de variedades. Porém, deve-se tomar muito cuidado na extrapolação dos resultados (Ludlow, 1976), para o campo ou para recomendações de cultivo. Deve-se fazer uma avaliação da performance das variedades em campo (o ideal seria no campo do produtor), onde se deve avaliar o desenvolvimento do sistema radicular (que não pode ser avaliado em casa de vegetação, mesmo com potes de grande porte) em relação à parte aérea, a temperatura do dossel, abertura estomática, e Ψ_a , que respondem diferentemente no campo (Boyer, 1978); assim como para as concentrações de solutos, enzimas e ABA, a avaliação de campo trará mais certeza aos resultados obtidos em condições controladas. Contudo para o início de uma avaliação de genótipos, em casa de vegetação, pode-se ter um maior número de genótipos e de tratamentos, com medidas mais precisas.

5.7 • EM QUE ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO ESTUDAR AS RESPOSTAS DA PLANTA À SECA?

Os estádios de desenvolvimento em que as culturas são, em geral, mais sensíveis ao déficit hídrico são a emergência, a floração e a fase inicial de frutificação, e menos na fase vegetativa ou de maturação do órgão colhido (Bascur *et al.*, 1985; Guimarães, 1996; Pimentel *et al.*, 1999c,d).

Durante o desenvolvimento da planta, a densidade de raízes aumenta até o início da floração, decrescendo após, diminuindo a eficiência de absorção de água (Duncan & Baligar, 1991). Quanto às folhas, a atividade fotossintética por área aumenta com a idade da folha, até a sua expansão máxima, decrescendo após, até a sua senescência. Por isso, as folhas jovens são drenos importantes, principalmente no início do desenvolvimento do vegetal (Wardlaw, 1990). Por exemplo, após a expansão máxima da folha, a capacidade de ajustamento osmótico vai sendo perdida gradualmente (Morgan, 1984). Assim sendo, para obtenção de máxima produtividade agrícola, deve haver uma sincronia entre o desenvolvimento máximo, das raízes e das folhas-fontes dos órgãos a serem colhidos, e o início do período reprodutivo (Wardlaw, 1990), quando o crescimento vegetativo é paralizado, de forma a haver a máxima absorção de água e de nutrientes pelas raízes (Duncan & Baligar (1991), para garantir a máxima atividade fotossintética nas folhas-fontes (Pimentel *et al.*, 1999a, b).

O desenvolvimento reprodutivo do milho, por exemplo, é mais vulnerável ao estresse por deficiência hídrica durante a antese, diminuindo a sua sensibilidade com a progressão da reprodução (Sinclair *et al.*, 1990; Bruce *et al.*, 2002). Westgate & Boyer (1985) e Zinselmeier *et al.* (1995) demonstraram que o desenvolvimento do embrião na semente, após a polinização, é dependente da quantidade de carboidratos exportados pelas folhas-fontes para o órgão reprodutivo. Portanto, o desenvolvimento do grão depende da atividade fotossintética e acúmulo de amido destas folhas-fontes, pouco antes da polinização e fecundação das flores, para que haja grande translocação de açúcares para as flores, a fim de garantir o desenvolvimento do embrião, e conseqüentemente do grão. Hoje se sabe que o desenvolvimento do tubo polínico é menos sensível à falta d'água, e o "pegamento" da flor depende da exportação de carboidratos das suas folhas-fontes. Caso haja um estresse ambiental no momento da fecundação das flores, como falta d'água ou temperaturas altas, a atividade fotossintética das folhas-fontes será reduzida, causando um maior aborto de flores (Kramer & Boyer, 1995).

Segundo Waldren (1983), os valores de Ψ_a de folha na fase vegetativa podem ser um bom indicador da intensidade do estresse por falta d'água; contudo, na fase reprodutiva o seu uso fica incerto, devido à maior sensibilidade da cultura ao estresse neste estágio. Neste estágio de desenvolvimento, o conteúdo relativo em água (CRA) poderia ser um melhor indicador da intensidade do estresse (Hsiao, 1990). O histórico da cultura também é importante, pois aquelas plantas que tenham sido submetidas à falta d'água anteriormente no ciclo possuem maior tolerância à seca ("hardening"), com o seu potencial de água crítico mais baixo e maior capacidade de ajustamento osmótico (Morgan, 1984) .

Capítulo 6

Respostas Adaptativas das Plantas à Deficiência Hídrica



6.1 • INTRODUÇÃO

Os estudos realizados por Charles Darwin, durante sua viagem no Beagle, de 1831 a 1836, pela América do Sul, resultaram em seu livro “A origem das espécies”, que foi publicado pela primeira vez em 1859 (13 anos de preparação antes de publicá-lo...). Em sua edição mais moderna (Darwin, 1998), têm-se alguns textos que valem uma reflexão dos pesquisadores preocupados com a adaptação ambiental, no Capítulo 5 “Luta pela existência” e no Capítulo 6 “Seleção natural; ou a sobrevivência da mais adaptado”:

“Cada ser vivo, por mais simples que seja, está lutando para aumentar em número”... “Devemos nos consolar com o pensamento que a guerra da natureza não é incessante, que a morte seja rápida e que os mais vigorosos, mais saudáveis e mais felizes sobrevivam e se multipliquem.”... “Entre os seres vivos da natureza existe alguma variabilidade individual... se essa variação for em algum grau favorável para esse indivíduo da espécie, na sua infinitamente complexa relação com outros seres vivos e com suas condições físicas de vida, ela permitirá a preservação deste indivíduo. Cada pequena variação, se útil, será preservada pela Seleção Natural... e trará sucesso ao indivíduo, em deixar sua progênie.”... “Por outro lado, qualquer variação, no mínimo grau nociva, será destruída. A preservação das diferenças individuais favoráveis, e a destruição daquelas nocivas, eu chamei de Seleção Natural, ou a Sobrevivência do mais adaptado.”

“O clima tem uma grande importância na determinação do número de espécies, e períodos de frio e de seca são os mais efetivos nesse controle.”... “As diferenças individuais dadas pela natureza, e que podem ser selecionadas pelo Homem, devem primeiro ocorrer.”... “A variabilidade está, geralmente, relacionada às condições de vida a que cada espécie foi exposta durante sucessivas gerações.”... “Uma planta, na beira de um deserto, luta pela vida contra a seca, porém, mais precisamente, depende da umidade ali existente.”... “A seleção natural vai invariavelmente tender a preservar aqueles indivíduos nascidos com características que o fazem mais adaptado ao local que habitam.”

Atualmente, mais de um bilhão de pessoas não se alimentam adequadamente. Em torno de 60% das comunidades rurais nos trópicos e sub-trópicos estão sendo afetadas pela queda da produção agrícola familiar, sendo piores as condições na África subsaariana, parte da América Latina, Caribe, e Ásia Central, principalmente devido à degradação dos solos e maior incidência de secas, que serão cada vez mais frequentes, com as mudanças

climáticas globais (Stocking, 2003). Assim sendo, para que a produção agrícola possa ser implementada nas áreas marginais da Terra, onde o aumento da população é maior e a produtividade agrícola é baixa (Rockström & Falkenmark, 2000), necessita-se desenvolver sistemas de produção de baixo custo tecnológico, com plantas que evoluíram nestas áreas (Harlan, 1992). Nesses sistemas, se deve cultivar genótipos de espécies mais adaptadas aos estresses ambientais múltiplos, como a falta de água e de nutrientes, e, sobretudo, estes genótipos devem ser selecionados em ambientes marginais, e não em ambientes propícios aos vegetais, como ocorre na maioria das estações experimentais de pesquisa (Payne, 2000; Bruce *et al.*, 2002). Segundo Blum & Sullivan (1986), os genótipos de milho e de sorgo selecionados em regiões secas são mais tolerantes à desidratação que aqueles selecionados em regiões úmidas. Por isto, a tradicional filosofia para aumento da produção agrícola pela modificação do ambiente (com irrigação, uso de altas doses de fertilizantes etc.), para adaptá-lo às necessidades das cultivares usadas, já não é muito adequada a atual realidade agrícola, sobretudo após a crise do petróleo e da energia elétrica (alto custo atual do petróleo e da energia elétrica comparado às décadas de 50 e 60, na chamada revolução verde), e principalmente para estas áreas marginais. A nova filosofia da produção agrícola deve enfatizar a adaptação das cultivares ao ambiente, que é mais adverso nas regiões marginais (Duncan & Baligar, 1991). Nas áreas marginais para a agricultura, os agricultores tradicionais continuam a cultivar suas variedades locais, selecionadas no local, que se tornam assim um excelente banco de germoplasma para uso na seleção de plantas adaptadas à falta de água, nutrientes etc. (Harlan, 1992).

Durante os últimos 400.000.000 de anos de evolução das plantas, com a pressão seletiva de ambientes secos e salinos fora dos mares, as variações no comportamento entre espécies começaram a evoluir, surgindo plantas mais adaptadas aos ambientes mais áridos (Dietrich *et al.*, 2001). Visto que a agricultura tem aproximadamente 10.000 anos, o processo seletivo feito pelo Homem, por mais que tenha tido avanços, como a adaptação do trigo (originário do Próximo Oriente) ou do milho (originário da América Central), às baixas temperaturas da Europa (Harlan, 1992), não pode ser comparado (principalmente pelo número de gerações envolvidas) com a seleção natural ocorrida nos ambientes marginais, onde as plantas nativas dessas áreas se desenvolveram por um longo período. O processo de seleção natural em regiões marginais, sujeitas à falta de água e de nutrientes, fez com que os materiais genéticos nativos dessas áreas sejam mais adaptados aos estresses

desse ambiente, como por exemplo o feijão guandu, amendoim, milheto e sorgo, quando comparados com genótipos originários de regiões mais úmidas e de alta fertilidade natural, como o feijão comum e o milho (Duncan & Baligar, 1991; Harlan, 1992).

A despeito dos muitos estudos para se entender as causas das inúmeras mudanças físico-químicas que ocorrem na célula sob desidratação, as condições celulares, que causam alterações no metabolismo, são ainda pouco compreendidas (Lawlor, 2002). Segundo Passioura (1997), nesse estudo das respostas da planta ao déficit hídrico, ainda há muitas dúvidas sobre as vantagens ou desvantagens dessas respostas, porque elas são complexas, abrangendo os níveis da célula, da planta e do dossel no campo e, assim, refletem a integração dos efeitos do estresse e das respostas da planta, sob todos os níveis de organização, no espaço e no tempo. Por isso, a adaptação à seca é considerada uma característica multigênica, de inúmeros caracteres, que são variáveis entre as espécies, e, portanto, de difícil determinação (Blum, 1997). Assim sendo, não basta buscar uma única resposta, e o seu controle genético, para transformar uma planta sensível em uma tolerante à seca, pois não adianta muito se ter a síntese de compostos protetores ao estresse aumentada na planta, se ela possui uma epiderme muito permeável à água, perdendo água facilmente para a atmosfera, ou se ela tem um sistema radicular pouco profundo e ineficiente na captação de água do solo. Por exemplo, quando sob desidratação, mesmo um genótipo de feijão comum, com rápido fechamento estomático como o BAT 117 (Pimentel *et al.*, 1999a, b) tem o seu Ψ_a foliar abaixado mais rapidamente que um genótipo de feijão caupi, com fechamento estomático mais lento (Figura 14), pois a transpiração cuticular do feijão comum é bem maior que aquela do feijão caupi, que tem uma epiderme mais suberizada. Ainda segundo Passioura (1997), para a maioria das culturas mais estudadas, os cientistas, que tentam obter um aumento de produtividade em cultivo sob sequeiro, ficariam felizes em obter somente um pequeno percentual de aumento de produtividade, nesses ambientes de alta variabilidade de suprimento hídrico.

As características do sistema radicular, quanto à capacidade de obtenção de água, devem ser uma das primeiras informações a serem buscadas, para o estudo da capacidade de uma planta em tolerar a falta de água. Algumas plantas, como o milheto, originário de regiões semi-áridas do oeste africano, e considerado uma das plantas mais tolerantes à seca (Harlan, 1992), é capaz de extrair água das camadas profundas do solo, sem apresentar outras características de tolerância muito desenvolvidas.

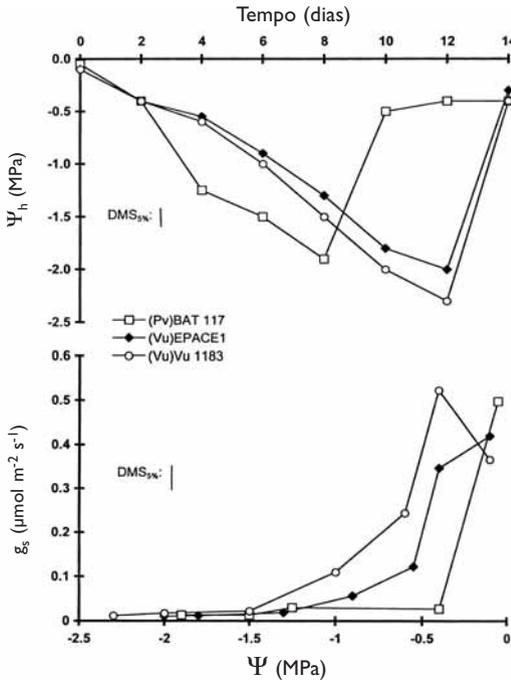


Figura 14 • Valores de potencial de água da folha (Ψ_a) e da condutância estomática (g_s), em um genótipo de feijão comum (BAT 117) e dois de feijão caupi (EPACE e Vu 1183)

Ainda sobre a complexidade das mudanças físico-químicas na planta desidratada, somente a nível celular, segundo Bray (2002), 130 genes com potencial função na adaptação à seca, são ativados, interferindo com as funções metabólicas, em *Arabidopsis thaliana*. Isso sem contar as alterações na morfologia, de raiz e de parte aérea, e na fenologia da planta, que ocorrem sob desidratação. Na célula, as vias de transdução de sinais, que são comuns a diferentes estresses como por frio, osmótico e por falta d'água, envolvem os seus receptores membranares, que podem ser comuns ou não, em seguida os níveis de Ca^{+2} e as cascatas de fosforilação, com ação das fosfolípases C e D nos fosfolípidos membranares, para a produção dos mensageiros IP_3 , PIP_2 e PA, ativando vários tipos de cinases, as ativadas por genes (MAPK), as dependentes de Ca^{+2} (CDPK) e menos dependentes de Ca^{+2} (SOS), e as histidina cinases. Através dessas vias são ativados canais iônicos, e o ajuste

osmótico; é induzida a produção das proteínas LEAs hidrofílicas, promovendo o reparo dos danos e a estabilidade da cromatina; a produção de poliaminas e outros compostos estabilizadores das macromoléculas; a maior síntese das peroxidases para diminuir o efeito das EAO; o controle da extensibilidade da parede celular, para manter o crescimento; entre outros processos, assim como ativando os genes favoráveis (ZEP, NCED, AAO3 e MCSU, entre outros), ainda pouco conhecidos, através dos fatores de transcrição específicos para a seca (CBF/DRB) melhor conhecidos, promovendo a resposta da célula ao estresse (Xiong *et al.*, 2002). Por isso, justifica-se a afirmação de Passioura (1997) e de Blum (1997) de que pouco se conhece sobre os mecanismos de tolerância à seca e seu caráter multigênico.

6.2 • QUAIS AS RESPOSTAS ADAPTATIVAS À SECA ESTUDAR PARA A ESPÉCIE EM QUESTÃO?

Sob condições de suprimento inadequado de água ou quando a demanda evapotranspiratória é excessiva, se faz necessária a presença de alguma estratégia em condições naturais, para garantir a sobrevivência do vegetal. Por isso, é necessário identificar as características do vegetal em estudo que garantam a sobrevivência em ambientes com deficiência de água, para a sua seleção nos genótipos, a serem usados nos atuais sistemas de produção, com baixo custo tecnológico, sobretudo em clima tropical (Turner, 1986). Algumas dessas características permitem à planta evitar o período seco, encurtando o ciclo, por exemplo; outras características vão maximizar a absorção de água, através de uma alta capacidade do sistema radicular em absorvê-la, ou estão associadas à otimização do uso da água absorvida para a produção de matéria seca; e ainda um terceiro tipo de característica que está relacionada à capacidade do tecido vegetal em tolerar um baixo conteúdo de água, mantendo sua atividade metabólica (Turner & Jones, 1980). Turner (1986), baseado em Kramer (1980), propõe três tipos de respostas adaptativas de plantas sob estresse por deficiência hídrica (contemplando as características citadas acima), a saber: mecanismos de escape, mecanismos de tolerância sob alto conteúdo de água, e mecanismos de tolerância sob baixo conteúdo de água. Já mais recentemente, Subbarao *et al.* (1995) classificaram os mecanismos de adaptação à seca em três tipos: mecanismos de escape (“scape”), mecanismos de evitamento (“avoidance”) e mecanismos de tolerância à seca propriamente ditos, que também contemplam as mesmas características citadas acima. Os mecanismos de evitamento, segundo

Subbarao *et al.* (1995), são os mesmos de tolerância sob alto conteúdo em água, segundo Turner (1986). Tendo em vista que, na língua portuguesa, os termos evitamento e escape têm a mesma conotação, optou-se, neste texto, pela classificação de Turner (1986), conforme a Quadro 3.

Quadro 3 • Mecanismos fisiológicos de adaptação à seca (escape e tolerância), segundo Turner (1986), e que podem ser aditivos

Mecanismos de escape (habilidade da planta de completar o ciclo antes de ocorrer falta d'água severa):

Desenvolvimento fenológico rápido (durante o curto período de chuvas) e plasticidade de desenvolvimento (encurtamento ou prolongamento do ciclo, quando ocorre falta d'água).

Mecanismos de tolerância sob alto conteúdo de água [habilidade da planta de manter alta hidratação, quando a precipitação é baixa (Kramer, 1980)]:

Fechamento estomático (1ª linha de defesa); enrolamento de folha; mudança no ângulo da folha; aumento da Lp da raiz (atividade das aquaporinas e fluxo apolástico); enraizamento rápido e profundo (sobretudo sob o estresse, com diminuição da expansão celular na folha e aumento da expansão celular da raiz); manutenção da área foliar das folhas-fontes (*stay green*), na pré e pós floração, com senescência das folhas mais velhas; perfilhamento e florescimento dos perfilhos secundários; remobilização de reservas dos colmos e ramos para os grãos; redução no número e na esterilidade de grãos por panícula; redução do intervalo entre a floração masculina e feminina (no milho); xeromorfismo [epiderme múltipla e, ou esclerosada, cutícula espessa, tricomas, cerosidade, esclerose da exoderme (quando existente) etc.]; aumento da dissipação de fluorescência não-fotoquímica (Qn) e metabolismo CAM.

Mecanismos de tolerância sob baixo conteúdo de água [habilidade da planta de se submeter à baixa hidratação, quando a precipitação é baixa (Kramer, 1980)]:

Menor área foliar; acúmulo de carboidratos em raízes; ajustamento de parede e, ou osmótico; capacidade de recuperação na reidratação (inativação dos sistemas enzimáticos e não-degradação); acúmulo de açúcares solúveis e aminoácidos nas folhas (mantendo a estrutura de macromoléculas); transporte de água na raiz via aquaporinas, com redução da Lp da raiz; tolerância protoplasmática (manutenção da integridade membranar e de outras macromoléculas, devido à: composição em fosfolípidos da membrana, menor atividade de lipases e proteases, maior atividade de peroxidases, e síntese de compostos protetores, como as xantofilas, polióis, ascorbato, tocoferol, pequenas HSP, poliaminas, deidrinhas, ácido jasmônico, brassinosteróides e ácido salicílico); anidrobiose (< 23% de água) de sementes, esporos, pólen e líquens (vitrificação do citoplasma: açúcares solúveis substituem a água na estrutura de macromoléculas).

Deve-se ressaltar que as respostas adaptativas à falta de água serão discutidas segundo os três tipos citados, mas isto não quer dizer que uma planta não possa ter os três tipos de mecanismos. Em geral, essas características são aditivas (mais uma vez ressaltando o caráter multigênico da adaptação à deficiência hídrica), pois como foi citado anteriormente não adianta se ter características de tolerância sob baixo conteúdo de água, se a planta não evita a perda de água pela parte aérea, tendo uma alta L_p em folhas (Figura 14).

Porém não basta conhecer os principais mecanismos ou respostas adaptativas existentes entre os vegetais, se deve principalmente buscar quais, dentre as muitas características adaptativas, são utilizadas pela espécie em estudo. Por exemplo, a maioria das leguminosas, à parte o feijão guandu e o amendoim, que fazem o ajustamento osmótico (Subbarao *et al.*, 1995), desenvolve duas principais estratégias de tolerância à seca: o controle estomático (Schulze, 1986) e o desenvolvimento do sistema radicular (McCully, 1995; Guimarães *et al.*, 1996), sem fazer ajuste osmótico. Esses mecanismos se caracterizam como estratégias de tolerância sob alto conteúdo de água, reduzindo a perda de água por transpiração e maximizando a absorção de água sob déficit hídrico, contribuindo, desse modo, para manter um alto conteúdo em água da planta (Turner, 1986; Subbarao *et al.*, 1995). A eficiência de absorção de água pelas raízes depende de sua profundidade, volume, densidade (quantidade de pêlos radiculares), longevidade (Duncan & Baligar, 1991) e de outros atributos, como a condutividade hidráulica (L_p) nos diferentes órgãos da planta (Tyree, 1997). Isso ocorre porque as leguminosas apresentam, em geral (as espécies de Acácias, por exemplo, da região do Sahel africano, têm um sistema radicular bastante profundo), um sistema radicular pivotante pouco desenvolvido (Esau, 1974), e, por isto, são sensíveis à deficiência hídrica. Assim sendo, não adianta avaliar-se a capacidade de ajustamento osmótico na maioria das leguminosas, pois estas não o fazem. Já nas gramíneas, em geral, o sistema radicular é mais profundo e fasciculado (Esau, 1974), e a maioria faz ajustamento osmótico, mas também em maior ou menor intensidade, como por exemplo, ao se comparar a capacidade de ajuste osmótico entre o milho (pouco ajuste) e o trigo ou o sorgo (maior ajuste) (Kramer & Boyer, 1995). Contudo, para complicar mais esses estudos, algumas gramíneas bastante adaptadas à seca, como o milheto, fazem pouco ajuste osmótico, e a principal característica para a sua adaptação à seca é o sistema radicular bastante profundo (Harlan, 1992).

6.3 • PRINCIPAIS RESPOSTAS ADAPTATIVAS PARA A TOLERÂNCIA À SECA

Dentre as inúmeras respostas das plantas à falta de água, algumas são nocivas e outras podem ser consideradas como adaptativas. Seguindo a proposta de classificação destas, feita por Turner (1986), as principais **respostas adaptativas de escape à seca** são o desenvolvimento fenológico rápido e a plasticidade de desenvolvimento (Quadro 3). As espécies com desenvolvimento fenológico rápido completam o seu ciclo reprodutivo durante o curto período de chuvas das regiões áridas e semi-áridas. Por exemplo, no subsaara africano, ocorrem 300 a 600mm de precipitação anual, que ocorrem num período de 75 a 119 dias, que é a época para o cultivo agrícola (Rockström & Falkenmark, 2000).

No Brasil, um exemplo típico deste desenvolvimento fenológico rápido ocorre com as plantas nativas da caatinga nordestina, onde estas se mantêm em estado vegetativo durante o período seco e, quando ocorrem chuvas, desenvolvem rapidamente suas flores e depois suas sementes, completando seu ciclo reprodutivo num curto espaço de tempo. Estas sementes produzidas durante o período de chuvas ficam no solo até a próxima estação de chuvas, quando germinarão rapidamente, para a instalação da planta, com o sistema radicular o mais profundo possível, para garantir a sobrevivência da espécie durante o próximo período seco, em estado vegetativo. As fases de desenvolvimento mais sensíveis à falta de água, quais sejam, a germinação (Guimarães, 1996), a floração e frutificação (Bascur *et al.*, 1985), só ocorrem durante o período de chuvas, enquanto no período seco estas espécies ficam em estado vegetativo, menos sensível à seca (Pimentel *et al.*, 1999a, b), ou melhor, ainda na forma de sementes, que são mais tolerantes à dessecação (anidrobiose), podendo sobreviver com menos de 10% de água (Hoekstra *et al.*, 2001). Qualquer outro tecido vegetal, na grande maioria das plantas superiores, não sobrevive quando o conteúdo de água é inferior a 75% (Kramer & Boyer, 1995).

Quanto à plasticidade de desenvolvimento, algumas espécies podem encurtar seu ciclo, se ocorrer falta de água, quando ela já tem um certo desenvolvimento vegetativo, que possa garantir a produção de sementes. Outros vegetais como o milheto podem prolongar o ciclo, quando ocorre uma seca terminal, aumentando o número de sementes produzidas. A produção de sementes pelo vegetal, que são tolerantes à dessecação, vai garantir a perpetuação da espécie (“to spread your genes”), que é o objetivo primário de qualquer ser vivo (Darwin, 1998).

Quanto aos mecanismos de tolerância sob alto conteúdo de água (Quadro 3), o controle estomático é considerado um mecanismo da parte aérea, que tende a favorecer o vegetal, quando o déficit hídrico tem um curto tempo de duração (veranicos). Porém, se o estresse for de longa duração, o fechamento estomático pode causar redução significativa na absorção de CO_2 (Farquhar & Sharkey, 1982; Tang *et al.*, 2002) e, conseqüentemente, reduzir drasticamente a produção. Chaves (1991) considera o fechamento estomático como primeira linha de defesa do vegetal para evitar o dessecação. Contudo, o fechamento estomático causa uma maior redução do fluxo de H_2O para fora da folha do que no fluxo de CO_2 que chega aos cloroplastos, reduzindo mais a taxa transpiratória que a taxa fotossintética (Nobel, 1999). Os genótipos de uma espécie podem diferir quanto à eficiência no uso da água, e na relação entre a condutância estomática e a capacidade fotossintética, durante o seu desenvolvimento (Osmond *et al.*, 1980). Essas diferenças podem também depender da diferença, entre genótipos, na sensibilidade da condutância foliar ao gradiente de umidade do ar, em torno das folhas (Ehleringer *et al.*, 1991). O comportamento das células-guardas e a abertura estomática são afetados por fatores internos, como o conteúdo de água foliar, a concentração de CO_2 interno, e a atividade de reguladores de crescimento, especialmente ABA, auxina e citocinina (Turner, 1986; Kramer & Boyer, 1995). Fatores que adiam a desidratação por reduzir a perda de água, como a redução na condutância estomática e no crescimento foliar, são processos que reduzem também a produtividade (Turner, 1986).

Já para a absorção de água, pode-se dizer que o sistema radicular funciona como um “sensor” da seca no solo (os estômatos, respondendo ao DPV do ar são os sensores da seca no ar), pois, antes que ocorra uma redução do potencial de água na folha, ocorre a indução do fechamento estomático e a inibição do desenvolvimento da área foliar. Esses processos são também controlados pelo ABA, oriundo das raízes, associado ao balanço dos outros fitormônios, que são transportados para a parte aérea, causando redução na transpiração (Davies *et al.*, 1990; Tardieu, 1997). Por exemplo, o acúmulo de ABA na parte aérea induz o fechamento estomático e o acúmulo de citocininas e auxinas, nesta, protege o aparato fotossintético e a ultraestrutura cloroplástica, diminuindo o efeito da falta de água e permitindo uma recuperação mais rápida, na reidratação (Kramer & Boyer, 1995; Yordanov *et al.*, 2000). Porém, estudos recentes têm mostrado que o ABA é também remobilizado na parte aérea e na folha, sendo direcionado às células-guardas, para induzir o fechamento estomático (Popova *et al.*, 2000). A condutância

estomática de feijão caupi, por exemplo, é muito sensível a pequenas mudanças no conteúdo em água do solo, antes mesmo que ocorram mudanças no conteúdo em água foliar (Ismail *et al.*, 1994).

Porém, não é só o envio de ABA para a parte aérea que vai controlar a transpiração, pois a variação da L_p da raiz e do xilema também controla a abertura estomática (Steudle, 2000; Schroeder *et al.*, 2001). A redução da L_p no apoplasto foliar ativa mecanicamente canais de Ca^{+2} para dentro da célula, ativando a exportação de ABA (Popova *et al.*, 2000), e inativando as bombas de prótons, e ativa o simporte H^+/K^+ para dentro, tornando o apoplasto menos ácido, onde os prótons são excluídos do citoplasma para o vacúolo e o K^+ é exportado via seus canais para o exterior, causando então o fechamento estomático (Netting, 2000). Já o aumento da L_p da raiz e do xilema, que pode ser variável segundo os genótipos, ocorre pelo aumento do transporte de água apoplástico (Hartung *et al.*, 2002) e, com o dessecação mais severo, com a ativação das aquaporinas nas raízes, na via transcelular de transporte de água (Javot & Maurel, 2002), que implementarão o fluxo de água para o xilema, o qual terá também sua L_p alterada para facilitar o fluxo de água para a parte aérea (Zwieniecki *et al.*, 2001), visando diminuir os efeitos da seca. Sob condições de dessecação prolongada, a L_p da raiz pode voltar a cair pela diminuição da condutividade da exoderme nas plantas que possuem estas células, para evitar a saída de água da raiz para o solo dessecado (Steudle, 2001).

O crescimento no sistema radicular pode ser mantido sob déficit hídrico moderado (Tardieu, 1997), porém, sob déficit severo, há redução no crescimento radicular do feijoeiro (Guimarães *et al.*, 1996), por exemplo. Este crescimento é sustentado por assimilados provenientes da parte aérea, e com déficit moderado observa-se um aumento na relação raiz/parte aérea, em plantas perenes (Hsiao & Acevedo, 1974). Isso ocorre porque o déficit hídrico, pouco severo, afeta mais o crescimento da parte aérea que a fotossíntese, aumentando assim a disponibilidade de assimilados para as raízes (Hsiao & Acevedo, 1974). Durante a desidratação, a expansão celular da raiz pode se manter, pois o ABA, que foi acumulado na raiz, impede a produção de etileno nesta (Sharp & LeNoble, 2002), alterando a elasticidade de parede das células da raiz, permitindo o crescimento radicular (Hsiao & Xu, 2000). Porém, o aumento desta relação tem um custo respiratório, podendo reduzir a eficiência do uso de água (Passioura, 1986). O acúmulo de substâncias protetoras, como as poliaminas e proteínas LEAs, auxiliam na manutenção do crescimento celular (Xiong *et al.*, 2002).

Além dos mecanismos citados acima, existem outros mecanismos de tolerância sob alto conteúdo de água, como as mudanças na orientação da área foliar, estando perpendicular aos raios solares pela manhã e paralela a estes, ao meio-dia. Isto aumenta a interceptação da luz pelo amanhecer e no final da tarde, e reduz o tempo de exposição, ao meio-dia, de plantas de feijão comum (Hsiao, 1990), por exemplo. As diferentes cultivares de feijoeiro comum podem apresentar diferentes temperaturas foliares, sob mesmas condições de campo ou casa de vegetação, em virtude dos diferentes tamanhos de folha, orientações, e taxa de transpiração por unidade de área foliares (Comstock & Ehleringer, 1993). Em gramíneas, o enrolamento de folhas diminui a superfície de transpiração, diminuindo as perdas de água (Teare & Peet, 1983), e pode ser um indicador da necessidade de irrigação. Isto ocorre porque estas espécies apresentam um sistema condutor foliar paralelinérveo (Esau, 1974), e o dessecamento dos bordos da folha, provoca o enrolamento desta.

A manutenção da área foliar das folhas-fontes na pré e pós-floração (com o gene *stay green*), que são aquelas próximas ao dreno colhido (Wardlaw, 1990), em detrimento das outras folhas, permite manter a atividade fotossintética dessas folhas, que são as principais responsáveis pelo enchimento do dreno, o que é também considerado uma resposta adaptativa sob alto conteúdo de água (Bruce *et al.*, 2000). Em gramíneas, a indução do perfilhamento secundário, como ocorre no milhoeto, é outro mecanismo de tolerância, pois cada inflorescência terá um momento diferente de fecundação, aumentando as chances de produzir algumas panículas viáveis (Payne, 2000; Winkel *et al.*, 2001). Se o milho tivesse essa característica de perfilhar, como seu ancestral, o teosinto (Harlan, 1992), poderia ser uma planta mais adaptada à seca, porém essa característica impediria a colheita mecanizada e, por isto, foi sempre uma característica indesejável para o melhoramento vegetal feito, principalmente nas décadas de 50 e 60, com a chamada revolução verde. Segundo Araus *et al.* (2002), o aumento da produtividade na segunda metade do século passado, principalmente após a década 70, decorreu da introdução do gene de nanismo (*dwarf gene*), o que é favorável para a agricultura em áreas marginais, e pelo maior índice de colheita (IC), o que causou aumento de rendimento em áreas favoráveis à agricultura, mas muito pouco em áreas marginais.

Uma característica desejável, principalmente em áreas marginais, é a prolificidade do milho (Mock & Pearce, 1975), produzindo várias espigas no único colmo, característica desejável para a adaptação à falta de água, que não afeta a colheita mecanizada; outra é a capacidade de remobilizar as reservas de

carbono (amido e açúcares solúveis) acumuladas nos colmos e ramos, para os órgãos reprodutivos. Em gramíneas, a bainha da folha é considerada um órgão de reserva, para posterior retranslocação para o grão (Warlaw, 1990). Vale ressaltar que pouco carbono, acumulado durante a fase vegetativa, pode ser remobilizado para o grão, pois este fica nos órgãos vegetativos, na forma de celulose, que não é degradada pelos vegetais superiores. A maior parte do carbono, encontrado no órgão colhido, é oriundo da fotossíntese ocorrida durante a formação e enchimento do órgão (Leegood, 1996). Contudo, algumas espécies originárias de regiões áridas, como o milho, mantêm o crescimento após a floração, e fazem uma grande remobilização de reservas do colmo para os grãos, quando ocorre um estresse terminal (Maiti & Bidinger, 1981).

Em milho, algumas outras características, específicas para a planta, são buscadas pelo melhoramento vegetal, mesmo naquele realizado pelas grandes empresas produtoras de sementes dos Estados Unidos, que são a diminuição do intervalo entre a floração masculina e feminina, aumentando a polinização das flores femininas, e a redução no número e na esterilidade de grãos por panícula, que implementam a produtividade da planta (Bruce *et al.*, 2000).

As características xeromórficas de algumas espécies (Figura 7), de regiões áridas ou semi-áridas, são consideradas também como um mecanismo de tolerância à seca, sob alto conteúdo de água (Turner, 1986), pois as xerófitas são plantas, expostas às condições de suprimento deficiente de água (Maximov, 1929). A maioria das plantas cultivadas é chamada de mesófitas, pois necessitam de grande disponibilidade de água, e aquelas que se desenvolvem em ambientes áridos são chamadas de xerófitas, apresentando algumas características específicas, para evitar a perda de água (Milburn, 1979). Essas características xeromórficas podem ser uma elevada relação volume-superfície, isto é, as folhas são pequenas e compactas, com mesófilo espesso, com o parênquima paliádico mais desenvolvido que o lacunoso, cujas células têm grandes vacúolos para armazenar água, pequeno volume de espaço intercelular, rede vascular compacta e, algumas vezes, com células pequenas (Esau, 1974). Outras características xeromórficas são: existência de uma hipoderme [tecido com poucos cloroplastos ou desprovido deles, segundo Esau (1974)], também chamada de epiderme múltipla (três camadas em *Nerium oleander*; Figura 6), principalmente na epiderme superior; e estômatos em depressões, que são características que podem reduzir a perda de água pelas plantas (Raven *et al.*, 2001). Além disso, há a cutícula, que é uma camada maior ou menor segundo as espécies, formada de material graxo, a

cutina, pouco permeável à água na parede externa da epiderme, cuja principal função é minimizar as perdas de água da folha (Figura 4), quando os estômatos estão fechados (Chamel *et al.*, 1991). Na epiderme de plantas xeromórficas podem ocorrer também pêlos, chamados de tricomas (Figura 5), que podem ter uma função de diminuir o aquecimento da folha e a evaporação da água, refletindo a luz incidente sobre a folha e criando uma camada-limite menos permeável à água (Poljakoff-Mayber & Lerner, 1994).

Segundo Maximov (1929), as plantas xerófitas podem ser agrupadas em: suculentas, como os cactos, que tem um sistema radicular superficial, mas com capacidade de estocar água nos tecidos, suficiente para se manter por meses ou anos sem reposição; efêmeras de deserto, que germinam e completam o ciclo durante o curto período de chuvas, um mecanismo de escape; e as “verdadeiras” xerófitas. Ainda segundo este autor, as xerófitas “verdadeiras” podem possuir: órgãos subterrâneos de reserva (tubérculos, bulbos e outras estruturas subterrâneas de reserva de carboidratos e de água, como o umbuzeiro no Nordeste brasileiro); sistema radicular muitas vezes maior, em volume, que a parte aérea, absorvendo água de grandes profundidades; folhas estreitas e espessas; epiderme e cutícula também espessas; estômatos em depressões; deposição de cera na superfície da folha, tornando-a fosca, refletindo mais a luz; e são plantas com capacidade de manter alta pressão osmótica nos tecidos e, por isto, com grande poder de sucção da água do solo, pois nos desertos, freqüentemente, a solução do solo contém alta concentração de sais.

Quanto às vias fotossintéticas, dentre os três tipos de metabolismo fotossintético de plantas, as plantas C_3 , C_4 e CAM, somente as plantas CAM podem ser consideradas como mais adaptadas à seca, sendo o metabolismo CAM considerado, portanto, um mecanismo de tolerância sob alto conteúdo em água (Osmond & Holtum, 1981). Isto não pode ser dito das plantas C_4 que, apesar de serem mais eficientes no uso de água, nem sempre são mais adaptadas à seca. Por exemplo, o milho e a cana-de-açúcar, duas plantas C_4 , são menos tolerantes à seca que o trigo, o feijão guandu ou o amendoim, que são plantas C_3 . Algumas plantas C_4 são bastante tolerantes à deficiência hídrica, como o sorgo e o milheto, mas não se pode generalizar que as plantas C_4 sejam mais adaptadas à falta de água que as C_3 (Pimentel, 1998). A evolução das vias fotossintéticas C_4 e CAM ocorreu, provavelmente a partir da via C_3 , devido à pressão seletiva para ambientes secos, salinos e com temperaturas altas, com base no metabolismo de carbono e eficiência no uso de água, pois enquanto as C_3 perdem em torno de 600 moléculas de H_2O por molécula de CO_2 fixada, as C_4 e CAM perdem entre 100 e 10 moléculas de H_2O por molécula de CO_2

fixada, respectivamente (Dietrich, 2001). Além desta maior eficiência no uso de água, o grande avanço evolutivo, em termos de adaptação ao ambiente árido, é a fixação noturna de CO_2 nas plantas CAM, quando o DPV do ar é mais baixo e, por isso, a transpiração também é menor à noite. As plantas CAM não possuem a anatomia “Kranz” das plantas C_4 ; elas são em geral plantas suculentas, com parênquima e vacúolos grandes, estocando água. Algumas são CAM obrigatórias, funcionando sempre com esse 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 massa seca, porém economiza água, podendo então ser considerado como o único tipo de metabolismo fotossintético que confere adaptação à seca (Osmond & Holtum, 1981). 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 massa seca (Nobel, 1999). Para a economia de água, além dessa vantagem, as plantas CAM têm uma frequência estomática (em torno de 2.500 estômatos cm^{-2}) dez vezes menor que plantas C_3 (em torno de 20.000 estômatos cm^{-2}) (Osmond et al., 1982).

Um outro mecanismo de tolerância à seca, sob alto conteúdo de água, é a maior capacidade de dissipação de fluorescência não-fotoquímica (Qn) nos fotossistemas (Chaves et al., 2002). Ludlow & Powles (1988) já assinalavam o efeito fotoinibitório associado com a deficiência hídrica, mesmo em plantas C_4 bastante tolerantes à seca, como o sorgo. Com a diminuição do conteúdo de água na planta, a assimilação de CO_2 é reduzida, por efeitos metabólicos (Tang et al., 2002; Ghannoum et al., 2003) e efeitos da restrição de CO_2 no interior do mesófilo devido ao fechamento estomático (Chaves et al., 2002; Cornic, 2000); porém, a atividade dos fotossistemas é menos afetada (Yordanov et al., 2000). Tendo em vista que a falta de água (e de chuvas) está frequentemente associada aos dias claros com alta incidência luminosa, os elétrons liberados na fotólise da água (no PS II), não são usados para a síntese de NADPH_2 (pois estes não estão sendo consumidos nas reações escuras da fotossíntese, reduzidas pelo estresse, e a cadeia de transporte de elétrons fica “fechada” e reduzida) e são usados na produção das espécies ativas de oxigênio (EAO), causando a degradação das proteínas CP43 e D1, do centro de reações dos fotossistemas, assim como outras proteínas e lipídeos (peroxidação de lipídeos) de membranas celulares (Yordanov et al., 2000; Lawlor & Cornic, 2002).

A maior dissipação da energia, capturada pelos centros de reação dos fotossistemas sob alta incidência luminosa, pelos sistemas de dissipação de energia não fotoquímica, é considerada então um mecanismo de tolerância à seca, sob alto conteúdo de água, mesmo em plantas irrigadas (Long *et al.*, 1994), e que é desejável para a adaptação a este estresse associado de falta de água e excesso de radiação luminosa (Chaves *et al.*, 2002; Noctor *et al.*, 2002). A dissipação de energia não-fotoquímica (Qn) pode ocorrer: via maior atividade fotorrespiratória, que consome ATP e NADPH₂ (Noctor *et al.*, 2002); pela maior atividade da reação de Melher [a fotofosforilação pseudo cíclica (Pimentel, 1998)], desviando elétrons da cadeia de transporte, mas gerando H₂O₂ (Chaves *et al.*, 2002), que é, por sua vez, transformado em H₂O, pelo sistema antioxidante do ascorbato/glutathione, associado à reação de Melher (von Caemmerer, 2000); pela maior capacidade de regeneração da proteína D1 (Yordanov *et al.*, 2000); mas principalmente pela maior atividade do ciclo das xantofilas, onde a violoxantina retira elétrons do centro de reação do PSII, se transformando em anteroxantina e depois em zeaxantina, que, durante à noite, sem danos, é de-epoxidada à violoxantina novamente, completando o ciclo (Long *et al.*, 1994; Chaves *et al.*, 2002; Noctor *et al.*, 2002).

Quanto aos **mecanismos de tolerância à seca, sob baixo conteúdo de água**, o baixo porte de plantas, com pequena área foliar, folhas com características xeromórficas, e um sistema radicular profundo e denso, são características morfológicas de adaptação a estas condições, já há muito estudadas (Blum & Sullivan, 1986).

Além disso, a maior eficiência de conversão de fotoassimilados em massa seca, com maior acúmulo de amido (reserva de carboidratos), é considerada uma característica desejável para a adaptação à desidratação sob baixo conteúdo de água (McCree *et al.*, 1990). Este acúmulo de amido pode ocorrer em raízes, como ocorre na mandioca, por exemplo, e já foi usado com sucesso, como característica, para a seleção de genótipos de dendezeiro (Adjahoussou & Vieira da Silva, 1978) e de algodoeiro (Souza & Vieira da Silva, 1992) mais tolerantes à seca. Em gramíneas, este acúmulo de reservas, na forma de amido, pode ocorrer nas bainhas das folhas ou nos colmos, que são, posteriormente, remobilizados para o grão, no momento do enchimento destes, caso haja um estresse nesse momento que cause redução da taxa fotossintética das folhas (Maiti & Bidinger, 1981; Payne, 2000). Em leguminosas, o acúmulo de massa seca pode ocorrer primeiramente em folhas, depois em ramos e finalmente em grãos, com o decréscimo de massa seca dos ramos, como foi observado por Gomes *et al.* (2000), com a cultivar

Negro Argel, de feijoeiro comum cultivado sob sequeiro. Este acúmulo de reservas na forma de amido tem duas funções: a primeira é manter a planta, quando o seu conteúdo de água é baixo e, conseqüentemente, a assimilação fotossintética é baixa ou nula (estádio III de desidratação, vide Quadro 2), e a segunda função é permitir uma rápida recuperação das plantas, quando reidratadas, com o uso do amido para promover a retomada de crescimento (McCree *et al.*, 1984).

Um outro mecanismo de tolerância à seca, sob baixo conteúdo de água, é o acúmulo ativo de solutos osmoticamente ativos na célula, que é chamado de ajustamento osmótico, e permite a manutenção da turgescência, crescimento e fotossíntese, sob baixos valores de Ψ_a na folha (Morgan, 1984).

Com o ajustamento osmótico, a planta extrai mais água, e perde menos água para a atmosfera, podendo manter seus estômatos mais abertos para a assimilação de CO_2 . Contudo, a velocidade de imposição do estresse é importante, pois, se o abaixamento do potencial de água for rápido, a planta não consegue se ajustar osmoticamente (Turner & Jones, 1980). O fenômeno do ajustamento osmótico é variável entre espécies e entre variedades de uma espécie e, para a folha, quando a expansão foliar é completa, a capacidade de ajustamento osmótico vai gradualmente sendo perdida (Morgan, 1984). Em relação à variabilidade entre espécies, por exemplo, o milho, milheto e sorgo fazem ajuste osmótico, mas o milho faz um pequeno ajuste osmótico (Kramer & Boyer, 1995), quando comparado às outras duas espécies, enquanto entre o milheto e o sorgo, este último faz maior ajuste osmótico, sendo mais tolerante à seca que as outras espécies (Blum & Sullivan, 1986).

Os solutos acumulados durante a falta d'água têm várias funções: como osmoticum, proteção de enzimas e membranas, acumulação de N não-tóxico, e o carbono e o nitrogênio assim utilizados poderão ser reaproveitados prontamente, após a reidratação, para a produção de biomassa (McCree *et al.*, 1984). Os solutos responsáveis por esse ajustamento compreendem: íons inorgânicos (K^+ , NO_3^- , Cl^- , $\text{SO}_4^{=}$ etc.), ácidos orgânicos (malato, aspartato etc.), carboidratos solúveis (sacarose, frutose e glicose), e aminoácidos livres (prolina, glutamina etc.) (Hanson & Hitz, 1982). Porém, de acordo com Turner & Jones (1980), os açúcares solúveis, aminoácidos e o K^+ equivalem de 60% a 100% dos compostos participantes do ajuste osmótico.

Contudo, Munns (1988) afirma que o ajustamento osmótico por si só não permite a manutenção do crescimento, pois a turgescência gerada com o ajuste osmótico não é o único fator de controle deste. O crescimento é dependente da turgescência celular, mas também depende da elasticidade de

parede celular e, conseqüentemente, do coeficiente de elasticidade desta. O ajustamento osmótico vai promover o turgor necessário para o crescimento mas, se não houver um ajustamento da elasticidade da parede celular, aumentando a sua capacidade de extensão, não haverá crescimento, como foi visto com a equação de Lockhart, apresentada no Capítulo 2.

O coeficiente de extensibilidade de parede é afetado pelo estresse hídrico, através da ação de enzimas ou extrusão de prótons, que causam mudanças na atividade e composição da membrana e da parede celular e, conseqüentemente, na sua extensibilidade (Yordanov *et al.*, 2000). Segundo Hsiao & Xu (2000), a variação da extensibilidade de parede parece ser controlada, em parte pelo menos, pela atividade da expansina, uma enzima que promove o afrouxamento da parede e o chamado crescimento ácido, que permite o crescimento diferenciado da raiz, em relação à parte aérea. Como a turgescência é a reação à tensão de parede, a extensibilidade desta vai controlar o potencial de turgescência e o potencial hídrico celular. Por isto, o crescimento é mais dependente da capacidade de extensão da parede do que do turgor (Neumann, 1995). Provavelmente, o enrijecimento da parede de células de folhas em desenvolvimento pode representar o mecanismo de ajuste primário ao déficit hídrico, precedendo o lento ajuste osmótico, via acumulação ativa de solutos (Munns, 1988). Segundo Frensch & Hsiao (1995), plantas de milho tolerantes à seca podem reduzir o potencial de turgescência mínimo (Y), através de alterações na parede, para manter o crescimento de raízes sob deficiência hídrica. Portanto, em plantas que fazem o ajustamento osmótico, mas primeiramente promovem um ajustamento da extensibilidade de parede, o Ψ_a foliar poderá manter-se menos negativo, mas, sobretudo o conteúdo relativo em água será menos reduzido (Pimentel, 1999).

Outrossim, o fenômeno conhecido como endurecimento (*hardening*) permite ao vegetal um maior ajustamento osmótico, quando este já tenha sido submetido a um primeiro ciclo de estresse por falta d'água. Os solutos acumulados no 1° déficit hídrico não são prontamente assimilados e permitirão um maior acúmulo e ajuste osmótico no 2° ciclo (Kramer & Boyer, 1995).

Dessa forma, a avaliação do ajustamento osmótico, como característica de tolerância à seca para o melhoramento vegetal, não se correlaciona com a produtividade do milho sob deficiência hídrica (Bolaños & Edmeades, 1995). Guei & Wasson (1993) demonstraram que a variância para efeito dominante é maior que a variância para efeito aditivo, na

expressão genética do ajustamento osmótico, que tem baixa herdabilidade e coeficiente de variação genética, e pouco progresso pode ser esperado para a seleção deste caráter (para o melhoramento vegetal, a variância genética aditiva é mais importante). Isso ocorre, provavelmente, porque o principal mecanismo de adaptação seja ao nível da composição de parede e do seu ajuste para reduzir sua extensibilidade, para, em seguida, com o acúmulo de uma menor quantidade de solutos (em um volume celular menor), ter o Ψ_{π} diminuído, e promover o fluxo de água do solo para a planta. Os genótipos de milho mais adaptados à seca (Miranda *et al.*, 1984) provavelmente fazem um ajuste de parede antes do ajuste osmótico, pois mantêm o seu Ψ_a de folha mais alto, sem acumular mais solutos que um genótipo sensível (Pimentel, 1999).

Como foi dito anteriormente, com a desidratação severa, há um acúmulo de açúcares solúveis e de aminoácidos, que podem ser úteis para o ajuste osmótico, mas, principalmente, promovem uma proteção de proteínas e membranas, formando pontes de H^+ com proteínas e lipídeos, impedindo a sua inativação (Hoekstra *et al.*, 2001). Sob seca, há uma inibição da síntese de amido e de proteínas, mesmo sob seca moderada, provocando o acúmulo de açúcares solúveis e de aminoácidos, e, com a severidade do estresse, há um aumento da hidrólise dessas macromoléculas, provocando maior acúmulo destes compostos de baixo peso molecular (Hanson & Hitz, 1982). Para os carboidratos, sob deficiência hídrica severa, há o acúmulo de frutose-2,6-bisfosfato, trioses-P, glicose, frutose e menor acúmulo de sacarose (Lawlor & Cornic, 2002; Tang *et al.*, 2002), pois a atividade da sacarose fosfato sintetase também é reduzida (Vassey & Sharkey, 1989).

Além dos carboidratos, muitos outros compostos têm efeito protetor para a célula sob desidratação, como aqueles citados para a desidratação leve, no estágio I e II, mas que também têm efeito protetor para as plantas no estágio III de desidratação. Como exemplo, pode-se citar o acúmulo de: ascorbato, glutatona, tocoferol e xantofilas, desintoxicando a célula das espécies ativas de oxigênio (Noctor *et al.*, 2002); das desidrinas e poliaminas (Bruce *et al.*, 2002), que estabilizam macromoléculas, permitindo o crescimento celular em raízes sob seca; outros compostos protetores, como os polióis, aminoácidos, pequenas proteínas de choque térmico (HSP) (Yordanov *et al.*, 2000) e as proteínas LEAs, que ativam os sistemas de reparo de danos nas membranas (Xiong *et al.*, 2002); assim como dos candidatos à fitormônios, o ácido jasmônico, brassinosteróides e ácido salicílico, que protegem a integridade membranar e do DNA e RNA (Davies, 1995).

Vale ressaltar que, nos estudos sobre as respostas à deficiência hídrica, sob baixo conteúdo de água nos tecidos principalmente, deve-se atentar para a avaliação da capacidade de retomada do crescimento dos genótipos estudados, que pode ser diferente entre estes e dependente do estágio de desenvolvimento (Figuras 15 e 16), e é também considerado um mecanismo de adaptação (Pimentel *et al.*, 1999a). Isto ocorre porque em genótipos mais adaptados pode haver um menor efeito do estresse na integridade membranar, em função de sua composição de lipídeos e proteínas; pode haver também somente inativação dos sistemas enzimáticos das principais vias metabólicas, enquanto nos genótipos mais sensíveis pode haver degradação desses sistemas enzimáticos, pela proteólise, sendo necessária a síntese destas enzimas de novo, o que torna a recuperação mais lenta (Yordanov *et al.*, 2000; Hoekstra *et al.*, 2001).

A composição das membranas celulares, não só a plasmalema, mas também a membrana cloroplástica e de lisossomas, também pode diferenciar a capacidade da célula e da planta em tolerar a dessecação, pois ocorrem mudanças físico-químicas severas na célula dessecada, como inativação dos sistemas antioxidantes e de síntese de lipídeos e proteínas, entre outros, que vão afetar mais ou menos as membranas, dependendo de sua composição (Vieira da Silva, 1976). Nos genótipos mais tolerantes, mesmo dentro de uma espécie, há uma alta relação entre lipídeos e proteínas de membranas, principalmente dos glicolipídeos e galactolipídeos, com enriquecimento de ácido linolênico (Repellin *et al.*, 1997), permitindo manter maior estabilidade das membranas (Monteiro de Paula *et al.*, 1993).

Assim, a manutenção da integridade membranar parece ser uma característica de tolerância à seca, ao nível da célula, que é dependente de diversos fatores inerentes à membrana, como sua composição, mas também dependente da atividade de enzimas hidrolíticas e de proteção, como os sistemas antioxidantes e concentração de compostos orgânicos protetores, como os açúcares, aminoácidos carotenos, deidrinas, entre outros, ao nível citoplasmático. Por isso, este conjunto de características bioquímicas pode ser chamado de tolerância protoplasmática, e esta pode ser avaliada de forma simples, por um teste de tolerância protoplasmática (Vieira da Silva, 1976), pela liberação de eletrólitos e/ou de Pi de um tecido imerso em água destilada, pela medida da condutividade elétrica da solução ou dosagem de Pi da solução, se pode discriminar espécies tolerantes, quando o estresse imposto é severo (Vasquez-Tello *et al.*, 1990), ou genótipos de uma mesma espécie, como o feijão, quando o estresse é menos severo, no estágio II de desidratação (Pimentel *et al.*, 2000).

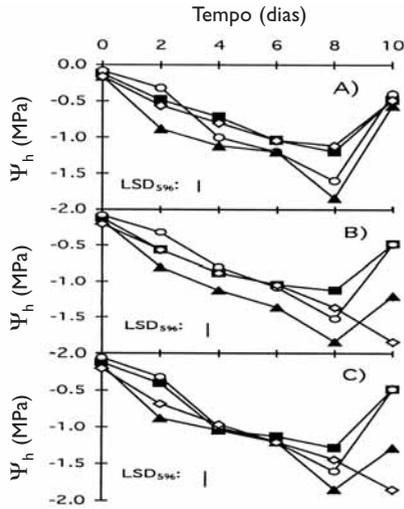


Figura 15 • Retomada do Potencial de água da folha (Ψ_a) em 3 genótipos de feijão (A, B e C) submetidos à desidratação em diferentes estádios de desenvolvimento

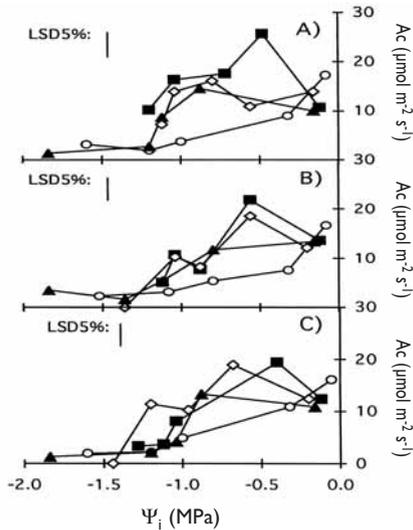


Figura 16 • Efeitos da desidratação aplicada em diferentes estádios de desenvolvimento (vegetativo, pré-floração, floração e enchimento de vagens), no potencial fotossintético (Ac) em 3 genótipos de feijão (A, B e C)

Porém, todas essas variáveis fisiológicas devem ser encaradas como caracteres secundários na seleção de plantas mais tolerantes à seca. Os caracteres primários devem ser os morfológicos (área foliar, posição de folhas, caracteres xeromórficos e, sobretudo, a área e profundidade do sistema radicular), os fenológicos (manutenção da área foliar nas folhas-fontes dos drenos, intervalo entre a floração masculina e feminina, no milho, esterilidade e número de grãos, duração do enchimento do dreno, entre outros), e os componentes da produção (número e massa dos drenos colhidos, na planta), com e sem deficiência de água, para avaliar a estabilidade de produção (Bruce *et al.*, 2002).

6.4 • PERSPECTIVAS PARA O AUMENTO DA PRODUTIVIDADE AGRÍCOLA EM ÁREAS MARGINAIS

Nos países em desenvolvimento, a população aumenta duas vezes mais rápido que a produção de alimentos, e o maior incremento na produção agrícola, nas duas últimas décadas, é decorrente da expansão das áreas exploradas, e não do aumento da produtividade. O maior aumento de população no mundo tem ocorrido no sul da Ásia e na região do subsaara africano, onde ocorre alto risco de seca em 44% da área, pois estas regiões são consideradas de zona seca subúmida (com 600 a 1200mm de precipitação anual, e 120 a 179 dias para o cultivo agrícola) na Ásia, e zona semi-árida e árida (com 300 a 600 mm de precipitação anual, e 75 a 119 dias para o cultivo agrícola) no subsaara africano (Rockström & Falkenmark, 2000). Além disso, as áreas mais produtivas do planeta estão provavelmente saturadas, em termos de produção agrícola e, portanto, a ênfase dos institutos de pesquisa agrícola deve se voltar para a produção vegetal em áreas marginais, onde os ambientes são desfavoráveis para as plantas (Harlan, 1992), ressaltando que há uma grande diferença entre a produtividade nas estações de pesquisa e a produtividade no campo do agricultor. Em Uganda, por exemplo, foi estimado que a produtividade de milho e de feijão, no campo do produtor equivale a somente 23% e 33%, respectivamente, da produtividade nas estações experimentais (Rockström & Falkenmark, 2000). Mesmo nas áreas mais produtivas do mundo, como nos Estados Unidos, o estresse por seca, por si só, causa uma diminuição significativa da produção de milho naquele país (Bruce *et al.*, 2002).

Para piorar as previsões, as mudanças climáticas que estão ocorrendo no mundo vão aumentar a probabilidade de ocorrência de secas, assim como

a degradação dos solos, pelo mau uso da terra, sem técnicas de conservação, relacionadas à diminuição da produtividade agrícola, que vem ocorrendo, vão reduzir o potencial produtivo futuro (Stocking, 2003). Devido à emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa na atmosfera, só no século XX, a temperatura média do ar aumentou em 0.6°C (Drake *et al.*, 1997), com conseqüências futuras graves. Durante os últimos 400.000 anos, com quatro grandes eras glaciais, a concentração de CO_2 atmosférico variou menos de 20% em torno de uma média de 24 Pa ($1\text{Pa} = 1\text{N m}^{-2} = 10^{-5}\text{ bar}$). Contudo, as concentrações atmosféricas atuais de CO_2 (37 Pa) e de metano são 30% e 250% maiores, respectivamente, que os máximos valores já alcançados anteriormente. O aumento na concentração desses gases na atmosfera foi causado principalmente pela queima de combustíveis fósseis, mas também de biomassa, e pelas mudanças do uso da terra nos últimos 150 anos, após a revolução industrial (Sarmiento & Wofsy, 1999). Este cenário permite prever a ocorrência de variações climáticas maiores, com períodos de muitas chuvas e outros com muito pouca, além da degradação dos solos, principalmente nas áreas marginais para a agricultura, onde o aumento populacional vai ser o maior.

Quanto à seleção de plantas mais tolerantes à falta d'água, o maior esforço dos tradicionais programas de melhoramento vegetal, desde a revolução verde no pós guerra, se concentrou em se selecionar vegetais para responder às práticas culturais, como a resposta à aplicação de fertilizantes (as plantas ditas "responsivas"), pois o petróleo era barato, ou para o aumento do rendimento na colheita mecanizada (Duncan & Baligar, 1991). Durante a revolução verde, as plantas eram selecionadas para alta área foliar por planta (para aumentar a interceptação de luz e atividade fotossintética) e alto índice de colheita (pequeno volume do sistema radicular), e os programas de melhoramento eram conduzidos em áreas de solos férteis, com baixa pressão para implementar a eficiência no uso de água e de nutrientes (Schrader, 1985). Contudo, essas condições encontradas no ambiente de uma agricultura de alta tecnologia, como na maioria das estações de pesquisa em região temperada, diferem enormemente daquelas encontradas no ambiente de uma agricultura de baixo custo tecnológico, em regiões tropicais semi-áridas e outros ambientes marginais para a agricultura (Winkel *et al.*, 2001).

Portanto, atualmente, há necessidade de se selecionar também genótipos adaptados para uma agricultura de baixo custo tecnológico, sob baixa disponibilidade de água e de nitrogênio, pois existem poucos estudos e genótipos selecionados para essas condições, enquanto existe uma gama de

genótipos indicados para a agricultura de alto custo tecnológico (Duncan & Baligar, 1991). Nessas condições marginais, os principais fatores responsáveis pela redução da produtividade são, pela ordem de importância: a) deficiência hídrica; b) carência nutricional; c) pragas e doenças (Kramer & Boyer, 1995). Para a realização de um programa de melhoramento deste tipo, a cooperação entre Melhoristas, Fisiologistas, Biologistas Moleculares e Fitotecnistas é capital para se determinar os caracteres da planta que devem ser selecionados, a sua herdabilidade e seu controle genético, visando a transferência de genes de tolerância para cultivares sensíveis, para uso no melhoramento vegetal. Atualmente, mesmo as grandes firmas de produção de sementes fazem uso do melhoramento vegetal, com o auxílio de marcadores moleculares (na análise QTL), para desenvolver novos genótipos mais rapidamente (Araus *et al.*, 2002; Bruce *et al.*, 2002).

Ao contrário da resistência a herbicidas e a insetos, que são características controladas por um único gene, o enfoque do controle genético para a adaptação à seca deve ser direcionado para localizar múltiplos genes e seus *loci* nos cromossomos, que sejam correlacionados com a produtividade agrícola sob seca (Dunwell, 2000). A localização destes *loci* favoráveis pode ser usada, através de seus marcadores moleculares, para selecionar plantas que apresentem o maior número destes *loci*, no melhoramento vegetal baseado em marcadores moleculares, a chamada análise de *loci* para caracteres quantitativos, a análise QTL (Bruce *et al.*, 2002). Para tanto, é preciso identificar os *loci* desses caracteres quantitativos desejáveis (QTL: quantitative traits *loci*), que podem estar localizados em diferentes cromossomos, tendo muitas vezes efeito interativo (redundância genética), o que é freqüente para a herdabilidade multigênica (Azanza *et al.* 1996). Para localizar os diferentes genes favoráveis à adaptação ambiental, o uso da análise QTL tem se mostrado uma ferramenta eficiente, onde variações fenotípicas de uma característica fisiológica, por exemplo, são associadas com marcadores genéticos localizados em posições específicas nos cromossomos, que assim são mapeados, estabelecendo a posição dos *loci* associados às variações fenotípicas estudadas, com o uso de programas de análise QTL em computadores. Essa análise requer a escolha de pais com características extremas, para obter-se uma grande fonte de variação na população originada de seu cruzamento (Koornneef *et al.*, 1997), e tem sido usada para produzir novos genótipos de milho pelas empresas produtoras de sementes (Bruce *et al.*, 2002), por exemplo, em menos de dois anos de seleção. As características fisiológicas ao nível celular, como atividade da

Rubisco e da nitrato redutase, de acúmulo de açúcares e prolina, ou de fitormônios, como o ABA, ou a taxa de assimilação de CO_2 , têm mostrado pouca ou inconsistente relação com a produtividade, principalmente se avaliadas na fase vegetativa, e melhor um pouco na fase de enchimento do órgão colhido, segundo Araus *et al.* (2002).

Até o presente, a fisiologia vegetal tem sido de pouco auxílio no melhoramento vegetal (Jackson *et al.*, 1996), devido à falta de metodologias e equipamentos de rápida mensuração, capazes de discriminar um grande número de progênies (para a seleção em plantas alógamas é necessária a avaliação de um grande número de plantas, em torno de 200 famílias), mas métodos de coleta rápida para posterior dosagem de metabólitos (Souza & Vieira da Silva, 1992) e **equipamentos mais modernos**, como a **pistola de termometria infravermelha** (Idso *et al.*, 1986) ou **imagens aéreas (a 800m) em infravermelho**, com a medida da depressão da temperatura de dossel, **espectroradiômetros**, com medidas da reflectância no espectro visível e próximo ao infravermelho, **o espectrômetro de massa**, com a discriminação isotópica do $^{12}\text{CO}_2$ $^{13}\text{CO}_2^{-1}$ (Farquhar & Sharkey, 1982; Ehleringer *et al.*, 1991), ou **os fluorímetros** (Long *et al.*, 1994), estão estreitando a cooperação do fisiologista com o melhorista vegetal. Dessa forma, a avaliação das características morfológicas e fenológicas correlacionadas à produtividade, seguida de variáveis fisiológicas secundárias, de rápida mensuração, associadas a uma análise QTL de uma população mapeada por marcadores moleculares, poderá permitir a identificação de *loci* ligados à tolerância à seca e, desta forma, selecionar materiais genéticos mais adaptados para o cultivo em áreas marginais sujeitas à falta d'água.

Alem disso, segundo Arnon (1975), uma característica importante para a produção agrícola, nessas áreas marginais, é a chamada estabilidade de produção, com relativa boa produtividade em anos de boa pluviosidade (porém menor que a de um genótipo para uma agricultura de alto custo tecnológico), mas também com boa produção em anos secos (quando um genótipo, de alto potencial produtivo em condições ótimas, pode ter uma produção baixíssima). Por exemplo, plantas de milho com menor porte, folhas mais espessas do que largas, com lígula e aurícula bem desenvolvidas (folhas mais eretas), maior número de pequenas espigas (e se possível que a planta perfilhasse), com desenvolvimento diferenciado, e baixo índice de colheita devido a uma grande massa seca de raízes são características que conferem maior estabilidade de produção no cultivo em ambientes desfavoráveis (Mock & Pearce, 1975).

Contudo, Bruce *et al.* (2002) ressaltam que os ganhos de produção no cultivo sob déficit hídrico podem ocorrer às custas do rendimento em ambientes sem esse estresse. Em estudo com várias cultivares de feijão, Pimentel & Perez (1999) verificaram que os genótipos com menor redução de produção, comparados às testemunhas irrigadas, muitas vezes têm uma produtividade baixa, e aquelas consideradas sensíveis, com alta porcentagem de redução na produção, mesmo com esta redução, têm ainda uma produtividade maior que o genótipo mais tolerante. Neste caso, a recomendação para um agricultor ainda é o genótipo mais sensível, porém mais produtivo. Isto acontece porque o custo energético dos mecanismos de adaptação à seca é alto (Hsiao, 1973; 1990), em detrimento da energia para o acúmulo de massa seca nos órgãos a serem colhidos, o que faz as plantas mais tolerantes terem, muitas vezes, um acúmulo de massa seca reduzido. Segundo Araus *et al.* (2002), a filosofia de melhoramento genético para aumento de produção, empregada pelo Centro Internacional de Melhoramento do Milho e Trigo (CIMMYT) e International Rice Research Institute (IRRI), tem sido feita para mega ambientes, e, em condições sem estresse, vem trazendo aumento da produtividade em ambientes não-estressados ou moderadamente, mas com baixa performance em ambientes sujeitos à falta d'água severa; já o International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) tem priorizado o aumento da capacidade de sobrevivência (tolerância a estresses severos) de cevada e trigo, selecionando os genótipos em ambientes marginais, com seca severa, onde a produtividade desses cereais é inferior a 1 ton ha⁻¹, obtendo-se, neste caso, algum ganho de produtividade em áreas marginais para a agricultura. Ainda segundo Araus *et al.* (2002), o melhoramento vegetal para aumento de produtividade para a agricultura de alto e baixo custos tecnológicos deve buscar caracteres fenotípicos, com interação favorável com genes que permitam a expressão do maior rendimento, e deve ser feito em três etapas: 1) eliminação dos fenótipos com características visuais agrônomicas inferiores, nas primeiras gerações; 2) selecionar fenótipos com características fisiológicas superiores, usando as metodologias rápidas, descritas acima, nas gerações intermediárias; e 3) selecionar para alta produtividade nas últimas gerações.

Tendo em vista que, segundo Blum (1986), a tolerância à falta de água e de nutrientes é maior em raças originárias de regiões secas, com baixa fertilidade na maioria das vezes (Winkel *et al.*, 2001), que nas raças originárias de regiões úmidas, onde a fertilidade natural é mais alta, deve-se buscar, portanto, genótipos nativos ou selecionados em regiões áridas (como o Sahel,

na África) ou semi-áridas (como o Nordeste brasileiro), para uso na agricultura de baixo custo tecnológico em regiões marginais. Além disso, deve-se desenvolver sistemas sustentáveis com baixo uso de insumos, e conseqüente baixo custo de produção, para as regiões agrícolas marginais (Payne, 2000), com o cultivo de plantas mais tolerantes aos estresses ambientais, e com maior eficiência na absorção e uso de nutrientes (Marschner, 1995), para se implementar a produção de alimentos nessas regiões, que são as mais pobres.

Existe uma variabilidade muito grande no grau de adaptação à falta de água entre espécies (que pode ser visto pelo valor de potencial de água letal de plantas, apresentados na Tabela 2) e, mesmo dentro de uma espécie, entre variedades (Ludlow, 1976). Além disso, existem diferentes mecanismos de adaptação empregados pelos vegetais, que são variáveis entre as espécies. Uma têm sistema radicular mais eficiente na absorção de água, outras com mecanismos, na parte aérea, para reduzir as perdas de água, e ainda há aquelas que possuem mecanismos variados para se submeterem à seca. Por isto, a adaptação à seca é uma característica multigênica e específica para cada espécie (Blum, 1997).

Ainda sobre a variabilidade de grau de adaptação das plantas à deficiência de água, de uma forma geral, as plantas mais adaptadas são aquelas que evoluíram naquelas condições. A agricultura tem em torno de 10.000 anos (Harlan, 1992). Por isso, é mais interessante, para o aumento da produção agrícola em áreas marginais, selecionar-se genótipos de espécies nativas de áreas marginais com secas, em vez de, por exemplo, cultivar feijão comum e milho, que são plantas nativas de áreas de altitude, menos estressadas. Portanto, o simples zoneamento agrícola das regiões mais pobres, onde a população mais cresce e que são também as áreas marginais para a agricultura (Rockström & Falkenmark, 2000), com a indicação das espécies mais adaptadas aos estresses locais (muitas vezes sendo espécies exóticas àquela região, mas que devem ser avaliadas nos centros de pesquisa locais), pode implementar a produção agrícola nessas regiões. Isto, junto com um programa de recomendação de tecnologias de baixo custo, com acompanhamento técnico da sua produção agrícola (muitas delas já são bem conhecidas, como a inoculação do *Rhizobium* em sementes de leguminosas, o plantio direto na palha, a adubação verde, o plantio consorciado, o manejo de solos salinos etc.), poderia ser usado para aumentar a produção agrícola nestas regiões com menor custo tecnológico que, por exemplo, o melhoramento vegetal assistido por marcadores moleculares, para selecionar genótipos mais adaptados nas espécies cultivadas no local.

O zoneamento agrícola por quantidade de chuvas, com a indicação das espécies a serem cultivadas, em função desta precipitação, por si só, poderá beneficiar as populações destas áreas marginais. Isto porque já se tem uma noção do grau de adaptação da maioria das espécies cultivadas (Tabela 2), principalmente em função do Centro de origem da espécie (Harlam, 1992). No nordeste brasileiro, por exemplo, que tem um clima semi-árido, o cultivo de espécies mais adaptadas à seca, como a de palma ou de *Atriplex nummularia*, uma forragem tolerante à falta d' água e à salinidade (essa planta originária do norte da África e Oriente Próximo, vem sendo introduzida no nordeste), ou como as gramíneas sorgo e milho e as leguminosas amendoim e feijão guandu, para a alimentação humana, poderia auxiliar no aumento da produção agrícola na região, pois estas espécies são mais produtivas, em clima semi-árido, que o milho e o feijão caupi, tradicionalmente cultivados. O milho é bastante sensível à seca quando comparado com o sorgo e o milho (que são usados na África subsaheliana para a alimentação humana), e o feijão caupi, que é mais tolerante que o feijão comum, é mais sensível à seca que o amendoim e o feijão guandu.

BIBLIOGRAFIA

LITERATURA CITADA E RECOMENDADA

- Hsiao, T. C. 1973. Plant response to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 24: 519- 570.
- Kozlowski, T. T. 1976 (1ª edição) ou 1978 (2ª edição). *Water deficits and plant growth*. Quatro volumes. Academic Press, New York.
- Kramer, P. J. & Boyer, J. S. 1995. *Water relations of plants and soils*. Academic Press, New York.
- Lange, O. L.; Kapeen, L. & Schulze, E. D. 1976. *Water and plant life. Problems and modern approach*. Springer-Verlag, Berlin.
- Milburn, J. A. 1979. *Water flow in plants*. Longman Group Ltd, London.
- Slavic, B. 1974. *Methods for studying plant water relations*. Springer-Verlag, Berlin.
- Slatyer, R. O. 1967. *Plant-water relationships*. Academic Press, N. Y.
- Turner, N. C. & Kramer, P. J. 1980. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Willey Publ., N/ Y.

OUTRA BIBLIOGRAFIA CITADA NO TEXTO

- Adjahoussou, F. & Vieira da Silva, J. 1978. Teneur em glucides solubles et em amidon et résistance à la sécheresse chez le palmier à huile. *Oléagineux*, 33: 599- 603.
- Alvim, P. de T. 1946. A influência do umedecimento das folhas sobre a abertura dos estômatos. *Ver. Ceres*, 7: 141- 152.
- Alvim, P. de T. 1965. A new type of porometer for measuring stomatal opening and its use in irrigation studies. *Arid Zone Res.*, 25: 325-329. UNESCO, Paris.
- Alvim, P. de T. & Havis, J. R. 1954. An improved infiltration series for studying stomatal opening as illustrated with coffee. *Plant Physiol.*, 29: 97- 98.
- Anderson, G. M. 1996. *Thermodynamics of natural systems*. John Wiley & Sons, New York.

- Angelocci, L. R. 2002. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera. Introdução ao tratamento biofísico. Editado pelo autor, Pirtacicaba.
- Aphalo, P. J. & Jarvis, P. G. 1991. Do stomata respond to relative humidity? *Plant, Cell Environ.*, 14: 127- 132.
- Arnon, I. 1975. Physiological principles of dryland crop production. In: Physiological aspects of dryland farming. Gupta, U.S. (Ed.).Oxford publ. Oxford, p. 3-146.
- Araus, J. L.; Slafer, G. A.; Reynolds, M. P. & Royo, C. 2002. Plant breeding and drought in C₃ cereals: what should we breed for? *Ann. Bot.*, 89: 925- 940.
- Assmann, S. M. & Zeiger, E. 1987. Guard cell bioenergetics. In: Stomatal function. Zeiger, E. Farquhar, G. D. & Cowan, I. R. (Ed.) Stanford University Press, Stanford, p. 163-193.
- Baldocchi, D. 1994. A comparative study of mass and energy exchange rates over a closed C₃ (wheat) and an open C₄ (corn) crop: II. CO₂ exchange and water use efficiency. *Agric. For. Meteorol.*, 67: 291-321.
- Balling, A. & Zimmermann, U. 1990. Comparative measurements of the xylem pressure of *Nicotiana* plants by means of the pressure bomb and pressure probe. *Planta*, 182: 325-338.
- Barrowclough, D. E.; Peterson, C. A. & Steudle, E. 2000. Radial hydraulic conductivity along developing onion root. *J. Exp. Bot.* 51: 547- 557.
- Bascur, G.; Oliva, M.A. & Laing, D. 1985. Termometria infraroja en selection de genotipos de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), resistentes a sequia. I Bases fisiológicas; II. Crecimiento y productividad. *Turrialba*, 35: 3-33.
- 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 Publ., Dordrecht. p. 298-317.

- Björkman, O. & Powles, S. B. 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress interaction with light level. *Planta*, 161: 490- 504.
- Blum, A. 1986. The comparative drought resistance of landraces of sorghum and millet from dry and humid regions. *Ann. Bot.*, 57: 1-12.
- Blum, A. 1997. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. In: *Drought tolerance in higher plants. Genetical, physiological and molecular biological analysis*. Belhassen E. (Ed.). Kluwer Academic Publ., Dordrecht. p. 57-70.
- Blum, A. & Sullivan, C. Y. 1986. The comparative drought resistance of landraces of sorghum and millet from dry and humid regions. *Ann. Bot.*, 57: 1243- 1251.
- Bolaños, J. & Edmeades, G. O. 1991. Value of selection for osmotic potential in tropical maize. *Agr. J.*, 83: 948-956.
- Bolaños, J. & Edmeades, G. O. 1995. Maize breeding for drought tolerance. In: *International Symposium on Environmental Stress: Maize in perspective: proceedings...* Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS/ Ciudad del México: CIMMYT/UNDP, 1995. p. 397-431.
- Boyer, J. S. 1970. Differing sensitivity of photosynthesis in sunflower after a period of low water potential. *Plant Physiol.*, 46: 236- 239.
- Boyer, J. S. 1978 (2ª edição). Water deficits and photosynthesis. In: *Water deficits and plant growth*. Koslowski T. T. (Ed.). Academic Press, New York, p. 153-190.
- Bray, E. A. 2002. Classification of genes differentially expressed during water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*: an analysis using microarray and differential expression data. *Ann. Bot.*, 89: 803-811.
- Bruce, W. B.; Edmeades, G. O. & Barker, T. C. 2002. Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *J. Exp. Bot.*, 53: 13- 25.

- Camargo, A. P. 1962. Contribuição para a determinação da evapotranspiração potencial no estado de São Paulo. *Bragantia*, 21: 163-213.
- Chagas, A. P., 1999. Termodinâmica química. Editora da Unicamp, Campinas.
- Chamel, A.; Pineri, M. & Escourbes, M. 1991. Quantitative determination of water sorption by plant cuticles. *Plant, Cell Environ.*, 14: 87- 95.
- Chaves, M. M. 1991. Effects of water stress on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.*, 42: 1- 16.
- Chaves, M. M.; Pereira, J. S.; Maroco, J.; Rodrigues, M. L.; Ricardo, C. P. P.; Osório, M. L.; Carvalho, I.; Faria, T. & Pinheiro, C. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Ann. Bot.*, 89: 907- 916.
- Cheeseman, J. M. 1991. PATCHY: Simulating and visualizing the effects of stomatal patchiness on photosynthetic CO₂ exchange studies. *Plant, Cell Environ.*, 14: 593-599.
- Cochard, H.; Coll, L.; Le Roux, X. & Améglio, T. 2002. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure in walnut. *Plant Physiol.*, 128: 282- 290.
- Comstock, J. & Ehleringer, J. R. 1993. Stomatal response to humidity in common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for maximum transpiration rate, water-use efficiency and productivity. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 20: 669-691.
- Cornic, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis. *Trends Plant Scie.*, 5: 187- 188.
- Dainty, J. 1976. Water relations of plant cell. In: Encyclopedia of plant physiology. Vol. 2. Transport in plants II, part A: cell. Lüttge, U. & Pitman, M. G. (Ed.) Springer-Verlag, Berlin. p. 12-35.
- Davies, P. J. 1995. The plant hormones: their nature, occurrence and functions. In: Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology. Davies, P. J. (Ed.). Kluwer Academic Publ. Dordrecht. p. 1- 12.

- Davies, W. J., Mansfield, T. A. & Hetering, A. M. 1990. Sensing of soil water status and the regulation of plant growth and development. *Plant, Cell Environ.*, 13 : 709-719.
- Darwin, C. 1998. *The origin of species*. Random House, Inc. New York.
- de Wit, C. T. 1958. Transpiration and crop yield. *Versl. Landbouk 64. Onderz. Wageningen*.
- Dietrich, P.; Sanders, D. & Hedrich, R. 2001. The role of ion channels in light- dependent stomatal opening. *J. Exp. Bot.*, 52: 1959- 1967.
- Doorembos, J. & Pruit, W. O. 1977. Crop water requirements. *Irrigation and Drainage Papers 24. FAO. Roma*.
- Doorembos, J. & Kassam, A. H. 1979. Yield response to water. *Irrigation and Drainage Papers 33. FAO. Roma*.
- Drake, B. G.; González-Meler, M. A.; Long, S. P. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 48: 609-639.
- Duncan, R. R & Baligar, V. C. 1991. Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: *Crops as enhancers of nutrient use*. Duncan, R. R & Baligar, V. C. (Ed.). Academic Press, San Diego, p. 3-36.
- Dunwell, J. M. 2000. Transgenic approaches to crop improvement. *J. Exp. Bot.*, 51: 487- 496.
- Ehleringer, J. R.; Klassem, S.; Clayton, C.; Sherrill, D.; Fuller-Holbrook, M.; Fu, Q. & Cooper, T. A. 1991. Carbon isotope discrimination and transpiration efficiency in common bean. *Crop Sci.*, 31: 1611-1615.
- Esau, K. 1974. *Anatomia das plantas com sementes*. Tradução de Morretes, B. L. Editora Edgard Blücher, São Paulo.
- Farquhar, G. D. & Sharkey, T. D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 33: 317-345.
- Farrar, J. F. 1993. Carbon partitioning. In: *Photosynthesis and Production in a changing environment*. Hall, D. O.; Scurlock, J. M. O.; Bolhàr-Nordenkamp, H. R.; Leegood, R. C. & Long, S. P. (Ed.). Cap. 15, p. 222-246.

- Farrar, J. F. 1996. Sinks-integral parts of a whole plant. *J. Exp. Bot.*, 47: 1273- 1279.
- Fermi, E. 1936. *Thermodynamics*. Dover Publ., New York.
- Ferri, M. G. 1944. Transpiração de plantas permanentes do cerrado. *Bol. Fac. Fil. Ciênc. e Letr. USP* 41. Botânica, 4: 159- 224. (tese de doutoramento).
- Ferri, M. G. 1955. Contribuição ao conhecimento da ecologia do cerrado e da caatinga. Estudo comparativo do balanço d'água de sua vegetação. *Bol. Fac. Fil. Ciênc. e Letr. USP* 195. Botânica, 12: 1-170. (tese de cátedra).
- Ferri, M. G. & Labouriau, L. G. 1952. Water balance of plants from the caatinga. *Rev. Bras. Biol.*, 12: 301- 312.
- Flexas, J. & Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C_3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann. Bot.*, 89: 183- 189.
- Franco, C. M. & Magalhães, A. C. 1965. Techniques for measurement of transpiration of individual plants. *Arid Zone Res.*, 25: 211- 214. UNESCO, Paris.
- Frensch, J. & Hsiao, T. C., 1994. Transient responses of cell turgor and growth of maize roots as affected by changes in water potential. *Plant Physiol.*, 104: 247-254.
- Frensch, J., 1997. Primary responses of root and leaf elongation to water deficits in the atmosphere and soil solution. *J. Exp. Bot.*, 48: 985-999.
- Freundl, E., Steudle, E. & Hartung, W., 1998. Water uptake by roots of maize and sunflower affects the radial transport of abscisic acid and its concentration in the xylem. *Planta*, 207: 8-19.
- Furbank, R. T. & Taylor, W. C. 1995. Regulation of photosynthesis in C_3 and C_4 plants: a molecular approach. *Plant Cell*, 7: 797-807.
- Ghannoum, O.; Conroy, J. P.; Driscoll, S. P.; Paul, M. J.; Foyer, C. H. & Lawlor, D. W. 2003. Nonstomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C_4 species. *New Phytol.*, 159: 599- 608.

- Grabov, A. & Blatt, M. R. 1998. Co-ordination of signaling elements in guard cell ion channel control. *J. Exp. Bot.*, 49: 351- 360.
- Gomes, A. A.; Araújo, A. P.; Rossiello, R. O. P. & Pimentel, C. 2000. Acumulação de biomassa, características fisiológicas e rendimento de grãos em cultivares de feijoeiro irrigado e sob sequeiro. *Pesqu. Agr. Bras.*, 35: 1927- 1937.
- Guei, R. G. & Wasson, C. E. 1993. Genetics of osmotic adjustment in breeding maize for drought tolerance. *Hereditarity*, 71: 436- 441.
- Guimarães, C. M. 1996. Relações Hídricas. In: *Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil*. Araújo, R. S.; Rava, C. A.; Stone, L. F.; Zimmermann, M. J. de O. (Ed.), Piracicaba, p. 139-167.
- Guimarães, C. M.; Brunini, O. & Stone, L. F. 1996. Adaptação do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) à seca I. Densidade e eficiência radicular. *Pesq. Agr. Bras.*, 31: 393-399.
- Hall, D. O. & Rao, K. K. 1994. *Photosynthesis. Studies in biology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Hanson, A. D. & Hitz, W. D. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Ann. Rev. Plant Phys.* 33: 163-203.
- Harlan, J. R. 1992. *Crops & Man*. Am. Soc. Agr., Madison.
- Hartung W.; Wilkinson, S. & Davies, W. J. 1998. Factors that regulate abscisic acid concentrations at the primary site of action at the guard cell. *J. Exp. Bot.*, 49: 361- 367.
- Hartung W.; Sauter A. & Hose E. 2002. Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where it go to? *J. Exp. Bot.* 53: 27- 32.
- Henson, I. E. 1985. Solute accumulation and growth in plants of Pearl millet (*Pennisetum americanum* Leeke). *J. Exp. Bot.*, 36: 1889-1899.
- Hillel, D. 1990. Role of irrigation in agricultural systems. In: *Irrigation of agricultural crops*. Stewart, B. A. & Nielsen, D. R. (Ed.) Am. Soc. Agr., Madison. pp. 5-30.
- Hoekstra, F. A.; Golovina, E. A. & Buitink, J. 2001. Mechanisms of plant desiccation. *Trends Plant Sci.*, 6: 431- 438.

- Hose, E., Clarkson, D. T.; Steudle, E.; Schreiber, L. & Hartung, W. 2001. The exodermis: a variable apoplastic barrier. *J. Exp. Bot.*, 52: 2245-2264.
- Hsiao, T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Phys.*, 24: 519-570.
- Hsiao, T. C. 1990. Measurements of plant water status. In: *Irrigation of Agricultural Crops*. Stewart, B. A. & Nielsen, D. R. (Ed.). Am. Soc. Agr., Madison. p. 244-279.
- Hsiao, T. C. & Acevedo, E. A. 1974. Plant responses to water deficits, water-use efficiency, and drought resistance. *Agric. Meteorol.*, 14: 59-84.
- Hsiao, T. C. & Xu, L. K. 2000. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *J. Exp. Bot.*, 51: 1595- 1616.
- Hussain, A.; Black, C. R.; Taylor, I. B. & Roberts, J. A. 1999. Soil compaction. A role for ethylene in regulating leaf expansion and shoot growth in tomato. *Plant Physiol.*, 121: 1227- 1237.
- Idso, S. B.; Clawson, K. L. & Anderson, M. G. 1986. Foliage temperature: effects on environmental factors with implications for water stress assessment and the CO₂ climate connection. *Water Resour. Res.*, 22: 1702- 1716.
- Ismail, A. M.; Hall, A. E. Bray, E. A. 1994. Drought and pot size effects on transpiration efficiency and carbon isotope discrimination of a cowpea accession and hybrids. *Austr. J. Plant Physiol.*, 21: 23-35.
- Jacoby, B. 1994. Nutrient uptake by plants. In: *Handbook of plant and crop physiology*. Pessaraki, M. (Ed.) Marcel Dekker. New York. p. 1-22.
- Jackson, P., Robertson, M., Cooper, M. and Hammer, G. 1996. The role of physiological understanding in plant breeding; from a breeding perspective. *Field Crop Res.*, 49: 11-37.
- Javot, H. & Maurel, C. 2002. The role of aquaporins in root water uptake. *Annals of Botany*, 90: 301- 313.

- 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.
- Knight, H. & Knight, M. R. 2001. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends Plant Sci.*, 6: 262- 267.
- Koorneff, M.; Alonso-Blanco, C. & Peeters, A.J.M. 1997. Genetic approaches in plant physiology. *New Phytol.*, 137: 1-8.
- Kramer, P. J. 1980. Drought stress, and the origins of adaptations. In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Turner, N. C. e Kramer, P. J. (Ed.) Wiley publ., New York. p. 7-22.
- Kramer, P. J. & Boyer, J. S. 1995. *Water relations of plants and soils*. Academic Press, New York.
- 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. (Ed.) Am. Soc. Agr., Madison. p. 475-508.
- Labouriau, L. F. G.; Valio, I. F.; Magalhães, A. C. & Coaraci, M. 1964. Nota sobre a abertura estomática noturna em plantas dos cerrados. *Na. Acad. Brás. Ciênc.*, 36: 465- 477.
- Larcher, W. 2000. *Ecofisiologia vegetal*. Traduzido por Prado, C. H. B. A. RiMa Artes e textos, São Carlos.
- Lauer, M. J. & Boyer, J. S. 1992. Internal CO₂ measured directly in leaves. Abscisic acid and low leaf water potential cause opposing effects. *Plant Physiol.*, 98: 1310-1316.
- Lawlor, D. W. 1976. Assimilation of carbon into photosynthetic intermediates of water stressed wheat. *Photosynthetica*, 10: 431-439.
- Lawlor, D. W. 2002. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Ann. Bot.*, 89: 871-885.
- Lawlor, D. W. & Cornic, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell Environ.*, 25: 275- 294.

- Leckie, C. P., McAinsh, M. R., Montgomery, L., Priestly, A. J., Staxen, I., Webb, A. A. R. & Hetherington, A. M. 1998. Second messengers in guard cell. *J. Exp. Bot.*, 49: 339-349.
- Lee, S.; Choi, H.; Suh, S.; Doo, I.-S. & Oh, K.-Y. 1999. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiol.*, 121: 147-152.
- 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. (Ed.), Marcel Dekker, New York, p. 21-42.
- Lichtenthaler, H. K. 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.*, 148: 4- 14.
- Libardi, P. L., 1995. Dinâmica da água no solo. Editado pelo autor, Piracicaba.
- Long, S. P. & Hallgren, J.-E. 1993. Measurements of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: Photosynthesis and production in a changing environment. A field and laboratory manual. Hall, D. O.; Scurlock, J. M. O.; Bolhàr-Nordenkamp, H. R.; Leegood, R. C. & Long, S. P. (Ed.). Chapman & Hall and UNEP, London. p. 129- 167.
- Long S. P., Humphries S. & Falkowski, P. G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45: 633-62.
- 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. (Ed.) Springer-Verlag. Berlin. v. 19, p. 364-386.
- Ludlow, M. M. & Powles, S. B. 1988. Effects of photoinhibition induced by water stress on growth and yield of grain sorghum. *Austr. J. Plant Phys.* 15: 179-194.
- Lüttge, U.; Kluge, M. & Bauer, G. 1996. Botanique. Traité fondamental. Tradução de Sieffert, V. A. Lavoisier, Tec & Doc. Paris.

- Maestri, M. & Barros, R. S. 1977. Coffee. In: *Ecophysiology of tropical crops*. Alvim, P. de T. & Kozłowski, T. T. (Ed.). Academic Press. New York. p. 249-278.
- Magalhães, A. C. N. 1979. Fotossíntese. in: *Fisiologia Vegetal*. Ferri, M. G. (Ed.) Editora Pedagógica Univ. São Paulo. p. 117-180.
- Maiti, R. K. & Bidinger, F. R. 1981. Growth and development of pearl millet plant. *ICRISAT Res. Bull.*, nº 6, Patancheru.
- 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. p. 598-616.
- Marschner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, San Diego.
- Masle, J. & Passioura, J. B. 1987. The effects of soil strength on the growth of young wheat plants. *Austr. J. Plant Physiol.*, 14: 643-656.
- Maurel, C., 1997. Aquaporins and water permeability of plant membranes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 48: 399-429.
- Maximov, N. A., 1929. *The plant in relation to water. A study of the physiological basis of drought resistance*. Tradução inglesa de Yapp, R. H. George Allen & Unwin Ltd, London.
- Maxwell, K. & Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51:659-668.
- McCree, K. J.; Kallsen, C. E. & Richardson, S. G. 1984. Carbon balance of sorghum plants during osmotic adjustment to water stress. *Plant Physiol.*, 76: 898-902.
- McCree, K. J.; Fernandez, C. J. & Ferraz de Oliveira, R. 1990. Visualizing interactions of water stress response with a whole-plant simulation model. *Crop Scie.*, 30: 294- 300.
- McCully, M. 1995. How do real roots work? Some news views of root structure. *Plant Physiol.*, 109: 1-6.
- Miranda, L. T.; Miranda, L. E. C. & Sawazaki, E. 1984. *Genética ecológica e melhoramento de milho*. Fund. Cargill, Campinas.

- Mock, J. J. & Pearce, R. B. 1975. An ideotype of maize. *Euphytica*, 24: 613- 623.
- Monteiro de Paula, F.; Pham Thi, A. T.; Zuilly-Fodil, Y.; Ferrari-Iliou, R.; Vieira da Silva, J. & Mazliak, P. 1993. Effects of water stress on the biosynthesis and degradation of polyunsaturated lipid molecular species in leaves of *Vigna unguiculata*. *Plant Physiol. Biochem.*, 31: 707- 715.
- Morgan, J. M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 35: 299- 319.
- 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. (Ed.). Marcel Dekker, New York. p. 441-466.
- Müller-Röber, B., Ehrhart, T. & Plesch, G. 1998. Molecular features of stomatal guard cells. *J. Exp. Bot.*, 49: 293-304.
- Munns, R. 1988. Why measure osmotic adjustment? *Austr. J. Plant Physiol.*, 15: 717-726.
- Neumann, P. M. 1995. The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits. *Crop Sci.*, 35: 1610-1619.
- Netting, A. G. 2000. Ph, abscisic acid and the integration of metabolism in plants under stressed and non-stressed conditions: cellular responses to stress and their implication for plant water relations. *J. Exp. Bot.*, 51: 147- 158.
- Nobel, P. S., 1999. Physicochemical and environmental plant physiology. Academic Press, New York.
- Noctor, G.; Veljovic-Jovanovic, S.; Driscoll, S.; Novitskaya, L. & Foyer, C. H. 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C₃ plants: a predominant role for photorespiration? *Ann. Bot.*, 89: 841-850.
- Oliva, M. A.; Lopes, N. F. & Façanha, J. G. V. 1984. Avaliação da resistência à seca de *Eucalyptus spp.*, mediante termometria infravermelho. *Ver. Árvore*, 8: 112- 122.

- Ort, D. R.; Oxborough, K. & Wise, R. R. 1994. Depressions of photosynthesis in crops with water deficits. In: Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field. Baker, N. R. & Bowyer, J. R. (Ed.). Oxford: BIOS Sci. Publ., p. 315-329.
- 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. (Ed.) Academic Press, New York, v. 8, p. 283-328.
- 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, p. 251-90.
- 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. (Ed.) Springer-Verla, Berlin, p.480-547.
- Parry, M. A.; Andralojc, P. J.; Khan, S.; Lea, P. J. & Keys, A. J. 2002. Rubisco activity: effects of drought stress. *Ann. Bot.*, 89: 833-839.
- Passioura, J. B. 1986. Resistance to drought and salinity: avenues for improvement. *Austr.J. Plant Physiol.*, 13 : 191-201.
- Passioura, J. B., 1988. Water transport in and to roots. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 39: 245-265.
- Passioura, J. B. 1997. Drought and drought tolerance. In: Drought tolerance in higher plants. Genetical, physiological and molecular biological analysis. Belhassen E. (Ed.). Kluwer Acad. Publ., Dordrecht. p. 1-5.
- Pauling, I. 1970. General Chemistry. Dover Publ., Inc., New York.
- Payne, W. A. 2000. Optimizing crop water use in sparse stands of pearl millet. *Agron. J.*, 92: 808- 814.

- Pereira, A. R.; Angelocci, L. R. & Sentelhas, P. C. 2002. Agrometeorologia. Fundamentos e aplicações práticas. Livr. Edit. Agropecuária, Guaíba.
- Pfeffer, W. 1912. Physiologie Végétale. Étude des échanges de substance et d'énergie dans la plante. Tome II, Échanges d'énergie. Traduzido por Friedel, J. G. Steinhel (Ed.), Paris.
- Pham Thi, A. T.; Flood, C. & Vieira da Silva, J. 1982. Effects of water stress on lipid and fatty-acid composition of cotton leaves. In: Biochemistry and metabolism of plant lipids. Wintermans, J. F. G. M. & Kuiper, P. J. C. (Ed.) Elsevier, Amsterdam, p. 451- 454.
- Pham Thi, A. T. Vieira da Silva, J. & Mazliak, P. 1990. The role of membrane lipids in plant resistance to water stress. Bull. Soc. Fra., 137: 99- 114.
- Pimentel, C.; Jacob Neto, J.; Goi, S. R. & Pessanha, G. G. 1990. Efeito do estresse hídrico em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., em simbiose com o *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. Turrialba, 40: 521-526.
- Pimentel, C. 1998. Metabolismo de carbono na agricultura tropical. Editora da UFRRJ, Seropédica.
- Pimentel, C. 1999. Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. Pesq. Agropec. Bras., 34: 2021-2027.
- Pimentel, C. & Hébert, G. 1999. Potencial fotossintético e condutância estomática em espécies de feijão caupi sob deficiência hídrica. Rev. Bras. Fisiol. Veg., 11: 7-11.
- Pimentel, C. & Perez, A. J. de la C. 1999. Estabelecimento de parâmetros para avaliação da tolerância à seca, em genótipos de feijoeiro. Pesqu. Agropec. Bras., 35: 31-39.
- Pimentel, C.; Hébert, G. & Vieira da Silva, J. 1999a. Effects of drought on O₂ evolution capacity and stomatal conductance of beans at the pollination stage. Environ. Exp. Bot., 42:155-162.

- Pimentel, C.; Laffray, D. & Louguet, P. 1999b. Intrinsic water use efficiency at the pollination stage as a parameter for drought tolerance selection in *Phaseolus vulgaris* Physiol. Plant., 106: 184-198.
- Pimentel, C.; Sarr, B.; Diouf, O.; Abboud, A. C. de S. & Macauley, H. R. 1999c. Effects of irrigation regimes on the water status of cowpea cultivated in the field. Physiol. Mol. Biol. Plants, 5:153-159.
- Pimentel, C.; Costa, E. S.; Santos, M. G. dos & Guimarães, V. F. 2000. Leaf protoplasmatic tolerance to water stress in bean genotypes. Physiol. Mol. Biol. Plants, 6: 15-20.
- Pham Thi, A. T. & Vieira da Silva, J. 1975. Action d'un traitement osmotique sur l'ultrastructure des feuilles de cotonniers (*Gossypium hirsutum* L. et *Gossypium anomalum* Waw. Et Peyr.) C. R. Acad. Sci. Paris, 280: 2857- 2860.
- Poljakoff-Mayber, A. & Lerner, H. R. 1994. Plants in saline environments. In: Handbook of plant and crop stress. Pessaraki, M (Ed.), Marcel Dekker, New York, p. 65- 96.
- Popova, L. P.; Outlaw Jr., W. H.; Aghoram, K. & Hite, D. R. C. 2000. Abscisic acid - an intraleaf water-stress signal. Physiol. Plant., 108: 376- 381.
- Pugnaire, F. I., Endolz L. S. & Pardos J. 1994. Constrains by water stress on plant growth. In: Handbook of plant and crop stress. Pessaraki, M. (Ed.) Marcel Dekker Inc. New York. pp. 247-260.
- Raven, P. H.; Evert, R. F. & Eichhorn, S. E. 2001. Biologia vegetal. 6ª edição. Edit. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.
- Ray, J. D. & Sinclair, T. R. 1998. The effects of pot size on growth and transpiration of maize and soybean during water deficit stress. J. Exp. Bot., 49: 1381- 1386.
- Rena, A. B. & Splittstoesser, W. E. 1974. Proline-dehydrogenase from pumpkin (*Cucurbita mostacha*) cotyledons. Physiol. Plant., 32: 177- 181.

- Repellin, A.; Pham Thi, A. T.; Tashakorie, A.; Sahrah, Y.; Daniel, C.; Zuilly-Fodil, Y. 1997. Leaf membrane lipids and drought tolerance in young coconut palms (*Cocos nucifera* L.). *Eur. J. Agron.*, 6: 25- 33.
- Ribaut, J.-M. e Pilet, P.-E. 1991. Effects of water stress on growth, osmotic potential and abscisic acid content of maize roots. *Phys. Plant.*, 81: 156-162.
- Rieger, M. & Livtin, P. 1999. Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *J. Exp. Bot.*, 50: 201-209.
- Rockström, J. & Falkenmark, M. 2000. Semiarid crop production from a hydrological perspective: gap between potential and actual yield. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 19: 319- 346.
- Rossiello, R. O. P.; Fernandes, M. S. & Flores, J. P. O. 1981a. Efectos del dessecamiento del suelo sobre el metabolismo de nitrogenio en tres cultivares de maiz (*Zea mays* L.). *Turrialba*, 31: 227-235.
- Rossiello, R. O. P.; Fernandes, M. S. & Flores, J. P. O. 1981b. Efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e a acumulação de carboidratos solúveis de milho. *Pesq. Agropec. Bras.*, 16: 561-566.
- Roy-Macauley, H.; Zuily-Fodil, Y.; Kidric, M.; Pham Thi, A. T. & Vieira da Silva, J. 1992. Effects of drought stress on proteolytic activities in *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. *Physiol. Plant.*, 85: 90- 96.
- Sarmiento, J. L.; Wofsy, S. C. 1999. A U. S. Carbon cycle science plan. A report for the agencies of the U. S. global change research program, USA.
- Sattelmacher, B., 2001. The apoplast and its significance for mineral nutrition. *New Phytol.*, 149: 167-192.
- Scheuermann, R.; Biehler, K.; Stuhlfauth, T. & Fock, H. P. 1991. Simultaneous gas exchange and fluorescence measurements indicate differences in the response of sunflower, bean and maize to water stress. *Phot. Res.*, 27: 189-197.

- Schrader, L. E. 1985. Metabolic balance in maize. In: Exploitation of physiological and genetic variability to enhance crop productivity. Harper, J.E.; Schrader, L.E. & Howell, R.W. (Ed.). Amer. Soc. Plant Phys., Bethesda. p. 79-89.
- Schroeder, J. I.; Allen, G. J.; Hugouvieux, V.; Kwak, J. M. & Waner, D. 2001. Guard cell signal transduction. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 52: 627-658.
- Schultz, H. R. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. Plant, Cell and Environ., 26: 1393- 1405.
- Schulze, E. -D. 1986. Carbon dioxide and water vapour exchange in response of drought in the atmosphere and in the soil. Ann. Rev. Plant Physiol., 37: 247-274.
- Schulze, E. -D. 1991. Water and nutrient interactions with plant water stress. In: Response of plants to multiple stresses. Mooney, H. A.; Winner, W. E. & Pell, E. J. (Ed.). Academic Press, San Diego, p. 89- 103.
- Schussler, J. R. & Westgate, M. E. 1995. Assimilate flux determines kernel set at low water potential in maize. Crop Sci., 35: 1074- 1080.
- Sharp, R. E. & LeNoble, M. E. 2002. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. J. Exp. Bot., 53: 33-37.
- Sinclair, T. R. & Ludlow, M. M. 1986. Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. Austr. J. Plant Physiol., 13: 329- 341.
- Sinclair, T. R.; Bennett, J. M. e Muchow, R. C. 1990. Relative sensitivity of grain yield and biomass accumulation to drought in field-grown maize. Crop Scie., 30: 690-693.
- Singh, S. P. 1995. Selection for water-stress tolerance in interracial populations of common bean. Crop. Scie., 35:118-124.
- Slatyer, R. O., 1967. Plant-water relationships. Academic Press, New York.

- Slavik, B., 1974. Water in cells and tissues. In: Methods for studying plant water relations. Slavik, B., (Ed.) Springer-Verlag, Berlin. p. 1-120.
- Souza, J. G. de & Vieira da Silva, J. 1992. Atividades enzimáticas, partição de carboidratos e crescimento em progênies de algodoeiro selecionadas para alto e baixo teor de amido nas raízes. *Pesqu. Agropec. Bras.*, 27: 1507- 1511.
- Spanner, D. C., 1964. Introduction to thermodynamics. Experimental botany. An international series of monographs, vol. 1. Academic Press, London.
- Spollen, W.; LeNoble, M. E.; Sammuels, T. D.; Bernstein, N.; Sharp, R. E. 2000. Abscisic acid accumulation maintains maize primary root elongation at low water potentials by restricting ethylene production. *Plant Physiol.*, 122: 967- 976.
- Stadler, H. P., 1989. Chemical thermodynamics: revision & worked examples. Royal society of chemistry, Cambridge.
- Stedle, E., 1994. Water transport across roots. *Plant and Soil*, 167: 79-90.
- Stedle, E., 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *J. Exp. Bot.*, 51: 1531- 1542.
- Stedle, E., 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 52: 847-875.
- Stedle, E. & Henzler, T. 1995. Water channels in plants: do basic concepts of water transport change? *J. Exp. Bot.*, 46: 1067- 1076.
- Stedle, E. & Peterson, C. A., 1998. How does water get through roots? *J. Exp. Bot.*, 49: 775-788.
- Stocking, M. A. 2003. Tropical soils and food security: the next 50 years. *Science*, 302: 1356- 1359.
- Stryer, I. 1995. Biochemistry (4th edition) W. H. Freeman and Company, New York.
- Stoll, M.; Loveys, B. & Dry, P. 2000. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. *J. Exp. Bot.*, 51: 1627- 1634.

- Subbarao, G. V.; Johansen, A. C.; Slinkard, R. C.; Rao, N.; Saxena, N. P. & Chauhan, Y. S. 1995. Strategies for improving drought resistance in grain legumes. *Cri. Rev. Plant Sci.*, 14: 469- 523.
- Sutcliffe, J. 1971. Plants and water. *Studies in Biology* n° 14, Edward Arnold Publ. Ltd, London.
- Talbot, L. D. & Zeiger, E. 1998. The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *J. Exp. Bot.*, 49: 329-337.
- Tamas, I. A. 1995. Hormonal regulation of apical dominance. In: *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology.* Davies, P. J. (Ed.). Kluwer Acad. Publ. Dordrecht. p. 572-597.
- Tang, A. C.; Kawamitsu, Y.; Kanechi, M. & Boyer, J. S. 2002. Photosynthetic oxygen evolution at low water potential in leaf discs lacking an epidermis. *Ann. Bot.*, 89: 861- 870.
- Tardieu, F. Drought perception by plants. 1997. Do cells of droughted plants experience water stress. In: *Drought tolerance in higher plants: Genetical, physiological and molecular biological analysis.* Belhassen, E. (Ed.). Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, p. 15-26.
- Tardieu, F. & Simonneau, T., 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *J. Exp. Bot.*, 49:419-432.
- Teare, I. D. & Peet, M. M. 1983. *Crop-water relations.* John Wiley & Sons Publ., New York.
- Thellier, M. & Ripoll, C. 1992. *Bases thermodynamiques de la biologie cellulaire.* Masson, Paris.
- Tsuda, M. & Tyree, M. T. 2000. Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *J. Exp. Bot.*, 51: 823- 828.
- 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. e Kramer, P. J. (Ed.) Wiley Publ., New York. p. 87-103.
- Turner, N. C. 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Austr. J. Plant Physiol.*, 43: 175- 190.

- Tyree, M. T. 1997. The cohesion-tension theory of sap ascent: current controversies. *J. Exp. Bot.*, 48: 1753-1765.
- Vassey, T. L. & Sharkey, T. D. 1989. Mild water stress of *Phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate synthase activity. *Plant Physiol.*, 89: 1066- 1070.
- Vazquez-Tello, A.; Zuilly-Fodil, Y.; Pham Thi, A. T. & Vieira da Silva, J. 1990. Electrolyte and Pi leakage and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *J. Exp. Bot.*, 228: 827- 832.
- Verhey, S. T. & Lomax, T. L. 1993. Signal transduction in vascular plants. *J. Plant Growth Reg.*, 12 : 179-195.
- von Caemmerer S. 2000. Biochemical models of leaf photosynthesis. CSIRO Publ., Collingwood.
- Xiong, L.; Scumaker, K. S. & Zhu, J. K. 2002. Cell signaling during cold, drought and salt stress. *The plant cell*, 14: 165- 183.
- Waldren, R. P. 1983. Corn. In: *Crop-water relations*. Teare, I. D. & Peet, M. M. (Ed.) John Wiley & Sons Publ., New York. p. 187-211.
- Wang, Y. Y., Zhou, R. & Zhou, X. 1994. Endogenous levels of ABA and cytokinins and their relation to stomatal behavior in dayflower (*Commelina communis* L.) *J. Plant Physiol.*, 144: 45-48.
- Wardlaw, I. F. 1990. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytol.*, 116: 341- 381.
- Webb, A. A. R. 1998. Stomatal rhythms. In: Lumsden PJ, Millar AJ (Ed.) *Biological rhythms and photoperiodism in plants*. BIOS Scientific Publishers, Washington. p.69-79
- Westgate, M. E. & Boyer, J. S. 1985. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. *Crop Sci.*, 26: 951-956.
- Weyers, J. D. B. & Meidner, H. 1990. *Methods in stomatal research*. Longman Group, London.
- White, J. W., Castillo, J. A. & Ehleringer, J. 1990. Associations between productivity, root growth and carbon isotope discrimination in *Phaseolus vulgaris* under water stress. *Austr. J. Plant Physiol.*, 17: 189-198.

- Winkel, T., Payne, W. and Renno, J.-F. 2001. Ontogeny modifies the effect of water stress on stomatal control, leaf area duration and biomass partitioning of *Pennisetum glaucum*. *New Phytol.*, 149: 71-82.
- Winter, E. J. 1976. A água, o solo e a planta. Traduzido por Reichardt, K. & Libardi, P. L. EDUSP, São Paulo.
- Wu, X.; Lin, J.; Zhu, J.; Hu, Y.; Hartmann, K. & Schreiber, L. 2003. Casparian strips in needles of *Pinus bungeana*: isolation and chemical characterization. *Physiol. Plant.*, 117: 421- 424.
- Yordanov, I.; Velikova, V.; Tsonev, T. 2000. Plant response to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica*, 38: 171- 186.
- Zeier, J. & Schreiber, L. 1999. Fourier transform infrared-spectroscopic characterisation of isolated endodermal cell walls from plant roots: chemical nature in relation to anatomical development. *Planta*, 209: 537-542.
- Zeier, J., Goll, A., Yokoyama, M. Karahara, I. & Schreiber, L. 1999. Structure and chemical composition of endodermal and rhizodermal/hypodermal walls of several species. *Plant, Cell Environ.*, 22: 271-279.
- Zinselmeier, C.; Lauer, M. J. & Boyer, J. S. 1995. Reversing drought-induced losses in grain yield: sucrose maintains embryo growth in maize. *Crop Sci.*, 35: 1390- 1400.
- Zimmerman, U., Meinzer, F. C., Benkert, R., Zhu, J. J., Schneider, H., 1994. Xylem water transport: is the available evidence consistent with the cohesion-tension theory? *Plant, Cell Environ.*, 17: 1169-1181.
- Zwieniecki, M. A. & Holbrook, N. M. 2000. Bordered pit structure and vessel wall surface properties. Implications for embolism repair. *Plant Physiol.*, 123: 1015- 1020.
- Zwieniecki, M. A.; Melcher, P. J. & Holbrook, N. M. 2001. Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants. *Science*, 291: 1059- 1062.



ARTWARE
PROJETOS ESPECIAIS

ISBN 85-85720-45-X



9 788585 720452