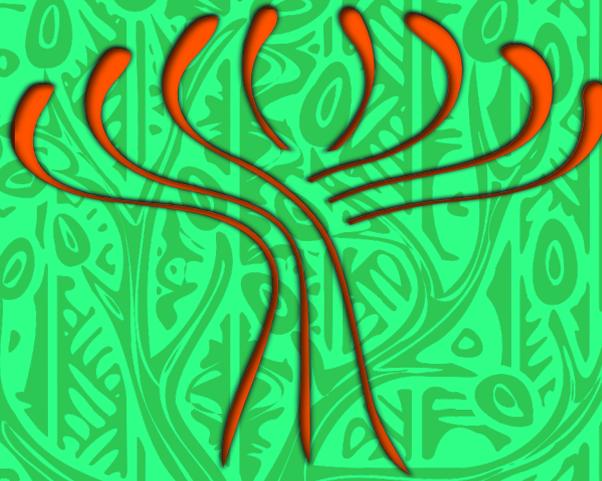




BOTÂNICA NO INVERNO

2013



BOTÂNICA NO INVERNO

Patrocínio e Apoio

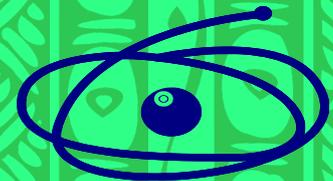


***instituto
de biociências***

MONSANTO



Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



C A P E S



PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
EM BOTÂNICA
DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



COPY - SET
REPRODUÇÕES GRÁFICAS LTDA. - ME
Tel: 3533-3612 / 8418-0151
copyset@gmail.com

eppendorf



BOTÂNICA NO INVERNO

2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS



Organizadores

Alejandra Matiz Lopez
Alice Nagai
André Vinicius Fonseca de Faria
Carmen Palacios
Cíntia Iha
Filipe Christian Pikart
Geisly Katon
Juliana Castelo Branco Brasileiro

Karina Bertechine Gagliardi
Kátia Pereira dos Santos
Keyla Rodrigues
Leonardo Hamachi
Marcelo Fernando Devecchi
Mário Albino de Oliveira Neto
Paulo Marcelo Rayner Oliveira
Paulo Tamaso Mioto

Professor Responsável

Profa. Dra. Claudia Maria Furlan

Autores

Adne Abbud Righi
Alejandra Matiz
Alice Nagai
Aline Siqueira Nunes
Augusto César de Barros Tomba
Beatriz Nogueira Torrano da Silva
Benoît Francis Patrice Loeuille
Bruna Silvestroni Pimentel
Bruno Silvestre Lira
Carmen Palacios
Carolina A. A. Azevedo
Carolina Krebs Kleingesinds
Cíntia Iha
Daniele Serra
Diogo Manzano Galdeano
Edgar Andrés Ochoa C.
Emmanuelle Silva Costa

Fabiana Firetti-Leggieri
Fábio Nauer
Fernanda Mendes Rezende
Fernando Sena
Filipe Christian Pikart
Geisly França Katon
Janaína Morimoto Meyer
Janaína Pires Santos
Jenifer C. Lopes
José Hernandes Lopes-Filho
Juliana Castelo Branco Brasileiro
Juliana El Ottra
Juliana Lovo
Karina Bertechine Gagliardi
Keyla Rodrigues
Leonardo Hamachi
Lucas Macedo Félix

Luis Carlos Saito
Luiz Henrique Martins Fonseca
Marco Aurélio Sivero Mayworm
Marcelo F. Devecchi
Mariane Sousa Baena
Mauro Alexandre Marabesi
Naomi Towata
Natália Ravanelli
Paula Natália Pereira
Paulo Tamaso Mioto
Paulo Marcelo Rayner Oliveira
Priscila Torres
Rafael Cruz
Ricardo Ernesto Bianchetti
Sarah Aparecida Soares,
Thália do Socorro Serra Gama

São Paulo
2013



Botânica no Inverno 2013 / Org. de Alejandra Matiz Lopez... [et al.]. – São Paulo : Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2012. 202 p. : il.

ISBN 978-85-85658-36-6

1. Botânica. 2. Extensão. 3. Pós-Graduação. I. Righi, Adne Abbud.
II. Título.



Índice

Índice.....	i
Apresentação	iii
1	
Estrutura e Desenvolvimento	1
A Fotossíntese CAM: mais comum do que parece	2
Como as Plantas se Defendem Frente à Infecção por Patógenos?	9
Os Estudos da Flor.....	13
Folha: Desenvolvimento e Estrutura.....	23
Metabolismo Secundário	34
Microrganismos x Planta: guerra ou parceria?	42
Papel Ecológico dos Metabólitos Secundários Frente ao Estresse Abiótico.....	52
Mecanismos Fisiológicos e Moleculares do Desenvolvimento Radicular	61
Espectros Específicos de Luz e Respostas Mediadas pelo Fitocromo.....	69
Nutrição Mineral.....	84
Reações Luminosas: Síntese a Partir da Luz.....	90
Mecanismos de Mitigação do Déficit Hídrico em Plantas Vasculares.	98
2	
Diversidade e Evolução	102
Polinização e Tipos de Reprodução em Angiospermas	103
A Origem do Cloroplasto e a Evolução dos Eucariontes Fotossintetizantes.....	110
Biodiversidade e Ecologia de Macroalgas Marinhas Brasileiras	118
Taxonomia: Princípios e Métodos.....	126
Ficocolóides: Polissacarídeos das Algas Marinhas.....	132
Algas Invasoras	139
Árvores Filogenéticas: da Classificação aos Estudos Evolutivos	144
3	
Recursos	152
Biocombustíveis.....	153
Origem e Evolução das Plantas Cultivadas	161
Plantas e Sociedade	171
A Cegueira Botânica e o Uso de Estratégias para o Ensino de Botânica	179
Transplastômica: Transformando Plantas em Biorreatores	184
Biologia Sintética.....	199





Apresentação

O Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP) é cenário de constante aprendizado, troca de conhecimentos, fluxo intenso de alunos de graduação e pós-graduação e muitas histórias. Desde professores eternizados em nomes de plantas aos recém-contratados (que já começam a deixar seus vestígios pelos andares), todos, em uníssono aos alunos de pós-graduação, buscam contribuir para o desenvolvimento cada vez maior da nossa segunda casa. E por que não tornar nossa casa mais acolhedora nos gélidos dias de inverno da capital paulista? E por que não alunos de pós-graduação tornarem-se “professores” e “orientadores” por 20 dias apresentando as diversas linhas de pesquisas desenvolvidas ao longo de tantos anos? Assim começou um curso de extensão universitária do departamento: “Botânica no Inverno”.

Na primeira edição do curso a iniciativa dos alunos de pós-graduação logo teve apoio unânime dos docentes do departamento de Botânica. O empenho de todos (professores e alunos) durante a primeira edição foi tamanha que culminou em enorme sucesso! A edição de 2012 foi ainda melhor, pois contamos com o apoio de toda a equipe do IB, incluindo docentes, funcionários e discentes. Também tivemos muita satisfação ao ver que participantes das edições anteriores agora estão se tornando nossos colegas na pós-graduação.

Nesse ano pretendemos continuar com o bom trabalho que foi feito nos anos anteriores e, para tanto, contamos novamente com o apoio de todos no IB. Em especial, gostaríamos de agradecer aos patrocinadores e a algumas pessoas da USP que nos ajudaram muito com esse curso de extensão. A professora Cláudia Maria Furlan sempre nos apoiou e nos guiou através dos labirintos burocráticos da USP. Os professores Renato de Mello Silva (Coordenador da Pós-Graduação) e Helenice Mercier (Chefe do Departamento de Botânica) nos ajudaram com o material didático. Os professores Carlos Eduardo Falavigna da Rocha e Welington Braz Carvalho Delitti (Diretor e Vice-diretor do IB, respectivamente) nos ajudaram muito disponibilizando verba do instituto, garantindo um maior apoio aos alunos participantes bem como a democratização do curso.

Apesar dos desafios, o curso continua de pé, buscando estabelecer pontes entre os alunos e professores da USP com pessoas de fora, de modo que a nossa pós-graduação possa continuar crescendo com qualidade. Desejamos a todos um excelente aproveitamento do curso e dos seus desdobramentos.

Comissão Organizadora do III Botânica no Inverno



1

Estrutura e Desenvolvimento



A Fotossíntese CAM: mais comum do que parece

Paulo Tamaso Miotto

Alejandra Matiz

O termo Metabolismo Ácido das Crassuláceas (CAM, pelas suas siglas em inglês) foi introduzido na década de 40, após observar que em *Bryophyllum calycinum* (espécie da família Crassulaceae) ocorria uma estranha variação da acidez nas suas folhas, aumentando durante a noite e diminuindo durante o dia. Hoje em dia, cerca de 70 anos depois, sabemos que o CAM está presente em outras famílias de plantas além das Crassuláceas, sendo encontrado em mais de 20,000 espécies terrícolas e aquáticas.

De maneira geral, a fotossíntese CAM consiste na assimilação noturna do CO₂ proveniente da atmosfera (ou do CO₂ respirado, como veremos adiante) em moléculas de fosfoenolpiruvato (PEP- sigla em inglês). Esse processo é mediado pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC), originando moléculas de oxaloacetato (OAA- sigla em inglês). O OAA é logo depois reduzido pela enzima malato desidrogenase (MDH) a malato, o qual é transportado e armazenado nos vacúolos na forma de ácido málico, originando a acidez noturna típica das plantas CAM. No dia seguinte, os estômatos mantêm-se fechados e o ácido málico que foi armazenado nos vacúolos é transportado para o citossol, onde é descarboxilado (pela enzima malica - ME ou pela fosfoenolpiruvato carboxicinas - PEPCK), liberando CO₂ e causando a desacidificação das células. O CO₂ liberado é refixado pelos cloroplastos pela enzima bifuncional ribulose-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco).

Baseado em estudos que mostraram em que momento as enzimas de carboxilação (PEP e Rubisco) agiam, o estado de abertura dos estômatos e quando acontecia o acúmulo de ácidos orgânicos na fotossíntese CAM, foi proposto, com caráter didático, o conceito das quatro *Fases do CAM*. Basicamente, o CAM pode ser dividido nas seguintes fases: 1) A *Fase I* consiste na abertura noturna dos estômatos acompanhado pela fixação do CO₂ e seu armazenamento na forma de ácidos orgânicos (ácido málico) no vacúolo; 2) durante a *Fase II* (começo do dia), os estômatos permanecem abertos e o CO₂ pode ser fixado através tanto da PEPC quanto da Rubisco, já que nesse período do dia tanto a PEPC quanto a Rubisco estão funcionando; 3) durante a *Fase III*, os estômatos fecham-se, enquanto os ácidos orgânicos são remobilizados para fora dos vacúolos e são descarboxilados, gerando o CO₂ para a Rubisco no ciclo de Calvin (C₃); finalmente 4) na *Fase IV*, que acontece na transição do dia para a noite, o acúmulo de ácidos orgânicos encontra-se esgotado e os estômatos começam a abrir novamente. Nessa transição, o CO₂ fixado é assimilado diretamente pela Rubisco via ciclo de Calvin. (Figura 1). É importante notar que essas fases são altamente variáveis entre as espécies, e só podem ser identificadas no chamado "CAM clássico" (vamos tratar dos tipos de CAM mais adiante).

Dessa maneira, uma vez que a fotossíntese CAM oferece continuamente CO₂ à Rubisco (durante as Fases II e III), poderíamos considerar, em essência, esse tipo de metabolismo um mecanismo concentrador de CO₂. Inclusive, essa parece ser a função principal do CAM em plantas aquáticas. Em plantas terrícolas, o CAM é também um mecanismo capaz de prover uma alta eficiência no uso da água, já que limita a abertura estomática a períodos de alta umidade do ar (por exemplo, durante a noite), permitindo a assimilação do CO₂ com pouca perda de água através da transpiração.

Além das características fisiológicas do CAM (fechamento dos estômatos à noite, acúmulo noturno de ácidos e aumento da atividade da PEPC), existe outra peculiaridade deste tipo de fotossíntese: a presença de duas vias de carboxilação, uma mediada pela PEPC e a outra pela Rubisco. Essas enzimas possuem diferenças devidas a características de fracionamento entre a Rubisco e a PEPC, ou seja, em termos práticos, a PEPC "gosta" um pouco mais do carbono 13 (isótopo de carbono) do que a Rubisco. Portanto, os valores de discriminação do carbono isotópico ($\delta^{13}\text{C}$) encontrados nas plantas são um indicativo de quanto CO₂ foi fixado pela Rubisco (durante o dia) ou pela PEPC (durante a noite). Conseqüentemente, o crescimento dependente da fixação noturna do CO₂ gera valores menos negativos de $\delta^{13}\text{C}$ (plantas CAM), enquanto o crescimento dependente da fixação direta do CO₂ atmosférico durante o dia origina valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais negativos (plantas C₃). Por essa razão, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados nos tecidos de plantas permitem nos dar uma boa ideia se a planta é CAM ou C₃.

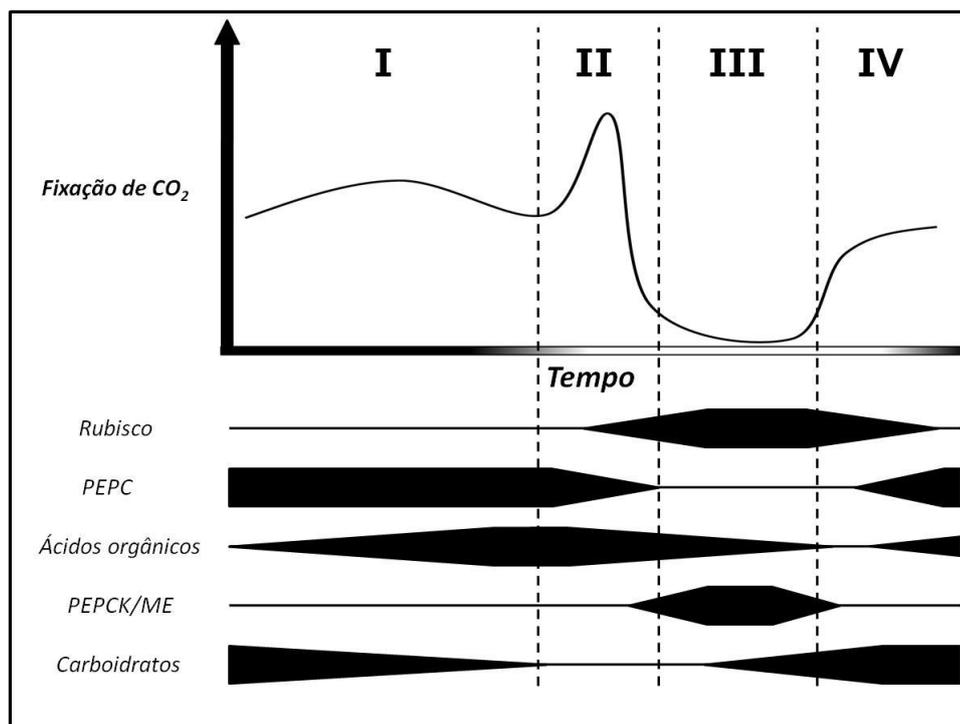


Figura 1: Fases do CAM. A barra clara no eixo-tempo indica o período diurno. A largura das barras pretas abaixo do gráfico indica o grau de atividade enzimática ou acúmulo dos compostos durante as quatro fases do CAM.

Tipos de CAM

Com mais informação na literatura sobre o CAM, sabemos que nem todas as plantas CAM fixam CO₂ exclusivamente durante a noite (CAM clássico); atualmente a fotossíntese CAM é considerada um fenômeno altamente flexível e por essa razão podem existir vários tipos de CAM. Novamente, essa proposição tem apenas fins didáticos, pois é quase certa a existência de um contínuo de expressão fotossintética desde o estado C₃ até o estado CAM, sendo que a força ou o tipo do CAM pode ser determinado, por exemplo, pelo estágio de desenvolvimento da planta, pelas condições ambientais, além da espécie vegetal. Embora o CAM clássico tenha sido caracterizado apresentando tradicionalmente um padrão de quatro fases (explicadas anteriormente), a flexibilidade do CAM e a diversidade de espécies CAM ilustram a existência de uma ampla faixa de respostas. Dessa maneira, dentro do CAM, podemos identificar três tipos principais: o CAM clássico, o CAM-cycling e o CAM-idling.

As plantas que operam em CAM-cycling possuem um perfil de trocas gasosas muito similar àquele encontrado em plantas C₃ (ou seja, com fixação de CO₂ durante o dia). A diferença é que nelas existe um acúmulo noturno de ácidos orgânicos, proveniente da refixação do CO₂ interno respirado via PEPC. Durante o dia, esses ácidos são descarboxilados e o CO₂ é fornecido para a Rubisco, enquanto os estômatos permanecem abertos (Figura 2). O CAM-idling é expresso apenas em condições ambientais mais extremas. Nesse tipo de CAM, os estômatos encontram-se fechados durante as 24 horas do dia, não havendo trocas gasosas com o ambiente. Entretanto, é possível observar um pequeno acúmulo de ácidos durante a noite, decorrente da recaptura do CO₂ respirado. O CAM-idling ao reciclar o CO₂ interno, evita um balanço negativo do carbono às custas do crescimento (Figura 2).

De maneira interessante, ambos os tipos de CAM podem ser induzidos em resposta à falta d'água ou outros fatores ambientais como incremento da luminosidade ou salinidade. Ou seja, uma planta que apresenta fotossíntese C₃ pode, por fatores ambientais e/ou ontogenéticos, ser induzida a expressar algum tipo de CAM, sendo este fenômeno conhecido como *CAM facultativo*.

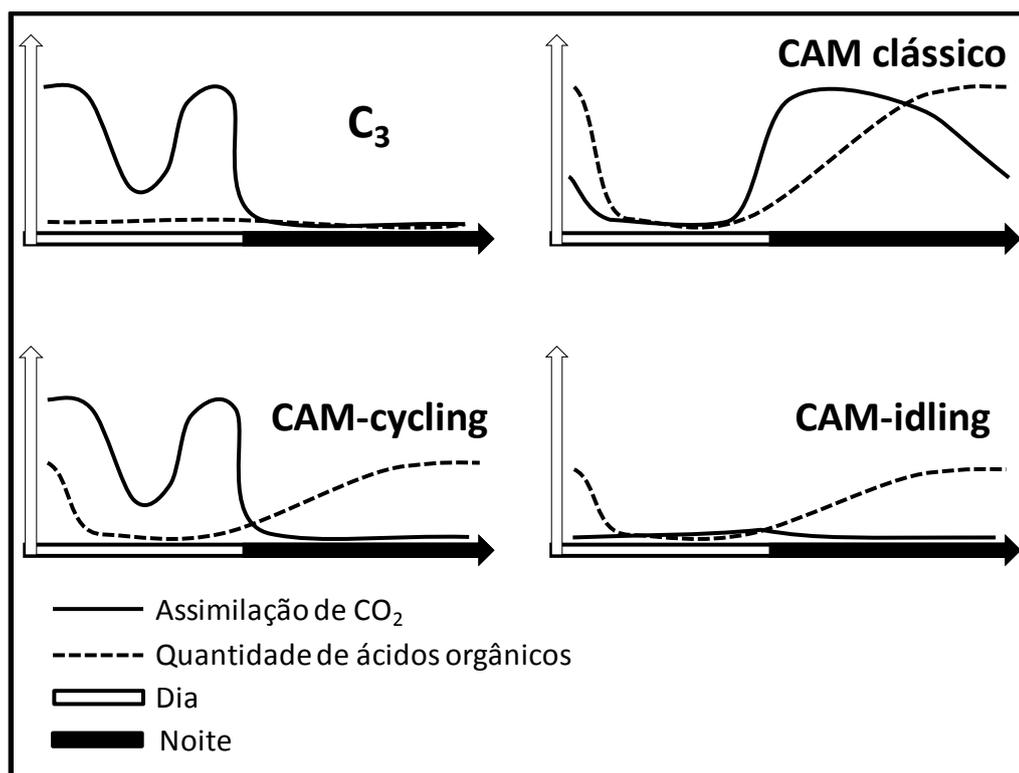


Figura 2: Características principais da fotossíntese C₃ e dos diferentes tipos de CAM (CAM-clássico, CAM-cycling e CAM-idling).

CAM constitutivo e facultativo

Algumas espécies são capazes de exibir CAM facultativo. O CAM facultativo pode ser parte do programa ontogenético da planta, no qual os fatores ambientais podem acelerar ou atrasar a transição já programada de C₃ para CAM. Dessa maneira, a expressão do CAM pode ser controlada exclusivamente pelo ambiente ou pelo desenvolvimento da planta ou, mais comumente, estar influenciada por ambos os fatores (Figura 3).

Alguns exemplos bem caracterizados de plantas CAM facultativas são *Mesembryanthemum crystallinum* e algumas espécies do gênero *Clusia*. *M. crystallinum* é uma espécie modelo de CAM facultativo que quando exposta a condições de alta salinidade passa a expressar o CAM. Winter & Holtum observaram que *M. crystallinum* é capaz de expressar fotossíntese C₃ durante seu ciclo de vida inteiro se mantida em condições de boa hidratação e não-salinidade, demonstrando que a indução do CAM nesta espécie é controlado tanto pelo ambiente e pela ontogenia. Mais ainda, quando *M. crystallinum* muda seu metabolismo fotossintético de C₃ para CAM, ele nunca volta para o modo C₃ mesmo se as condições adversas são removidas. Por outro lado, algumas espécies do gênero *Clusia* claramente apresentam a capacidade de mudar do estado C₃ para CAM e vice-versa em resposta quase que exclusivamente a mudanças das condições ambientais.

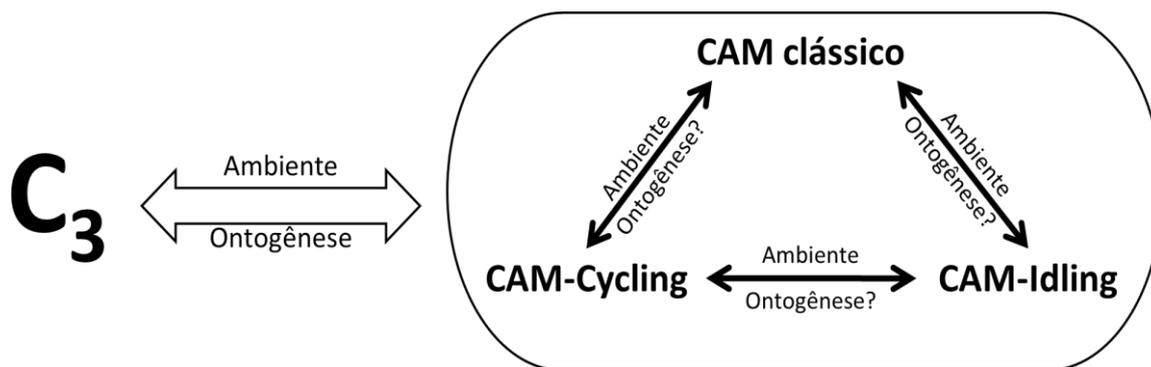


Figura 3: Fotossíntese C₃-CAM facultativa. As condições ambientais e/ou o programa ontogenético podem induzir a transição C₃-CAM. Dentro da fotossíntese CAM os mesmos fatores também regulariam a transição entre os tipos de CAM (Clássico, Idling, Cycling).

As plantas que sempre apresentam CAM nos seus tecidos maduros independentemente das condições ambientais (estressantes ou não) são classificadas como espécies *CAM constitutivas* (ou obrigatórias). Claros exemplos de plantas CAM constitutivas são algumas espécies dos gêneros *Opuntia* (família Cactaceae) e *Kalanchoë* (família Crassulaceae). Entretanto, mesmo sendo classificadas como plantas CAM constitutivas, algumas dessas espécies podem apresentar, também, algum grau de plasticidade na expressão do CAM em resposta às condições ambientais (Figura 3). Mesmo assim, temos que levar em consideração que nem condições ambientais favoráveis nem desfavoráveis são capazes de mudar o modo CAM para o modo C₃, porque o programa ontogenético dessas plantas não o permite. Para finalizar a discussão, parece que mesmo as plantas consideradas CAM constitutivas apresentam metabolismo C₃ quando jovens. Esse componente “facultativo” presente mesmo nas CAM constitutivas ainda gera muita controvérsia sobre como classificar as espécies com relação ao tipo de fotossíntese.

Regulação bioquímica do CAM: PEPC e PEPCK

Até aqui vimos que o CAM não apresenta apenas uma forma, e nem parece ser igual ainda que em um mesmo indivíduo, variando conforme as condições ambientais ou a ontogenia da planta. Sendo assim, a bioquímica do CAM precisa ser muito bem regulada para poder se ajustar a cada situação, sendo que erros nessa regulação podem levar, entre outras coisas, a um grande desperdício de energia. Um dos principais pontos de regulação do ciclo bioquímico do CAM é a enzima PEPC. Essa enzima possui dois tipos básicos de regulação alostérica: ativação na presença de glucose-6-fosfato (glu-6-P) e inibição pelo malato gerado pela MDH no final da rota bioquímica. Isso resulta que, ao final do dia, quando a célula está cheia de glu-6-P produzida pela fotossíntese e todo o malato acumulado na noite anterior foi consumido, a PEPC começa a ser ativada (juntamente com um estímulo para a síntese de mais proteína). No final da noite, como a concentração de malato começa a aumentar e o estoque de glu-6-P não é tão abundante, a PEPC vai perdendo atividade (Figura 4).

Já a enzima responsável pela assimilação de CO₂ durante o dia, a rubisco, é inibida por açúcares fosfato (como a glu-6-P) e, assim, apresenta um comportamento oposto ao da PEPC. Caso a PEPC funcionasse durante o dia (ao mesmo tempo que a rubisco) teríamos, além de uma competição das duas enzimas pelo CO₂, um ciclo fútil de carboxilação via PEPC e descarboxilação via PEPCK/ME.

Embora exista um controle através de metabólitos, como citado acima, há também um importante controle através de outras enzimas que ativam tanto a rubisco como a PEPC. No caso da PEPC, ela pode sofrer fosforilação por uma enzima chamada fosfoenolpiruvato carboxilase cinase (PPCK– evite confundi-la com a PEPCK!). Quando a PEPC está fosforilada, sua sensibilidade à inibição por malato é muito reduzida e a ativação por glu-6-P é muito aumentada (Figura 4). Essa regulação por enzimas é muito importante, porque permite um controle extra além dos metabólitos, podendo ser usada para ajustar o ritmo da enzima ao ritmo circadiano da planta. Adicionalmente, permite respostas rápidas e eficientes a sinais ambientais.

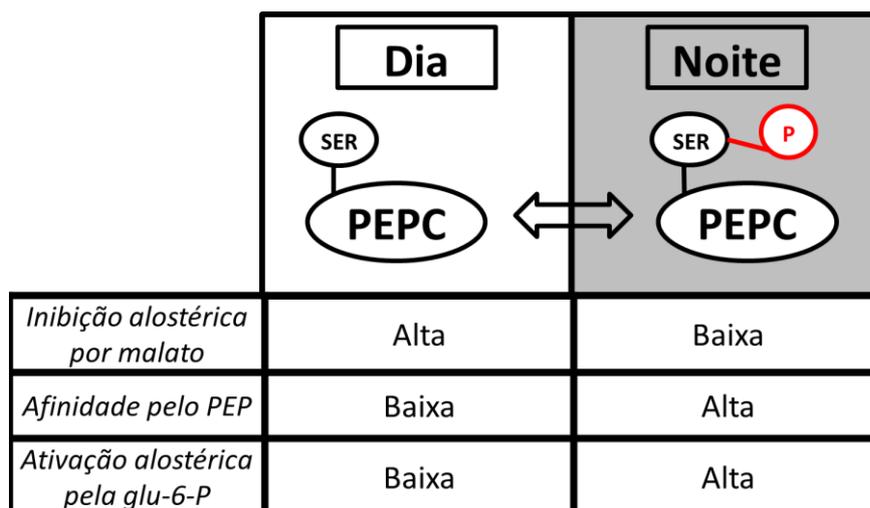


Figura 4: Regulação da PEPC. Durante a noite a PCK fosforila a PEPC. A fosforilação da PEPC causa um aumento de atividade nesta enzima, tornando-a menos sensível à inibição por malato, mais sensível à ativação por glu-6-P e aumentando sua afinidade pelo PEP.

As origens do CAM

Se já existe uma grande discussão quanto ao surgimento de espécies ou grupos taxonômicos, podemos imaginar que essa discussão seja ainda maior quando se trata do surgimento de processos fisiológicos. Analisando as espécies CAM atuais, é possível chegar à conclusão de que o CAM teria surgido muitas vezes, independentemente, a partir de ancestrais C_3 . Aqui, é interessante também traçar um paralelo com o metabolismo C_4 . Como você deve se lembrar, a fotossíntese C_4 é muito parecida com o CAM, com diferença que a divisão entre enzimas PEPC e rubisco é espacial, e não temporal. Inclusive, as enzimas são praticamente as mesmas tanto para plantas C_4 quanto para CAM. Como se isso não bastasse, todas as enzimas necessárias para o funcionamento do C_4 e do CAM estão presentes também em plantas C_3 . Então deveríamos fazer a seguinte pergunta: por que todas as plantas não são C_4 ou CAM? Para plantas C_4 , essa resposta é mais fácil, pois sabe-se que, para o C_4 funcionar bem, é preciso de uma anatomia especial - a anatomia Kranz (mesmo assim, existem plantas C_4 que não possuem esse tipo de anatomia e funcionam muito bem...). Mas e o CAM?

Se as enzimas estão presentes tanto nas plantas CAM como C_3 , por que todas elas não fixam CO_2 durante a noite? A resposta está na regulação das enzimas. A PEPC de plantas C_3 funciona durante o dia e está inativa de noite. Você deve estar pensando “só isso”? Bom, na verdade também precisaríamos “burlar” o controle estomático, fazendo com que os estômatos abram durante a noite o que, convenhamos, não é um processo tão complexo assim. Na verdade, viu-se que quando *Mesembryanthemum crystallinum* e *Portulacaria afra*, ambas CAM facultativas, eram induzidas ao CAM, seus estômatos perdiam a sensibilidade de abrir em resposta à luz azul, sendo controlados, aparentemente, mais pelo ritmo circadiano do que por fatores ambientais. Portanto, uma mudança em algum componente da sinalização da abertura estomática associado a outra mudança que faz com que a PEPC funcione de noite (e esse defeito nem precisa estar na PEPC – poderia muito bem estar na PEPCK) seriam praticamente suficientes para estabelecer o CAM. Na verdade, também seriam necessárias algumas alterações na membrana do vacúolo para permitir maior armazenamento de ácidos, mas se sabe pouco sobre isso, além de ser uma característica presente em todas as plantas. Se pensarmos no caso do CAM-cycling e do CAM-idling, um “defeito” apenas no funcionamento da PEPC bastaria para que esses metabolismos se estabelecessem.

Foi pensando justamente nessa facilidade de uma planta em se tornar CAM, que alguns pesquisadores sugeriram que a fotossíntese CAM e a C_4 poderiam ter surgido de processos de co-opção. Co-opção é quando uma característica evolutiva surge de outra já existente e passa a ter uma função diferente. A nova função não necessariamente substitui a antiga, o que ocorre, por exemplo, em um caso de duplicação gênica seguida de mutação em uma das cópias ou mesmo em uma duplicação imperfeita. Mais ainda, só com uma mudança no momento em que a PEPC está ativa (mudanças na região regulatória do gene), e não no código da proteína em si, teríamos uma boa parte do necessário para o CAM se estabelecer. Um fato que corrobora essa hipótese já foi citado anteriormente - o CAM teria surgido muitas vezes independentemente ao longo da evolução, por ser uma mudança relativamente simples. Alternativamente, é comum encontrar isoformas redundantes da PEPC em plantas, com pequenas diferenças no controle da expressão.



No registro fóssil, não temos como encontrar evidências diretas que uma planta apresentava ou não o CAM. No entanto, é possível compará-las com espécies que vivem atualmente ou usar características morfológicas/anatômicas comuns em plantas CAM atuais (como suculência, por exemplo) para inferir que certos fósseis poderiam ser capazes de realizar CAM. Com base nisso, *Isoetes* é um táxon que hoje em dia é exclusivamente CAM, além de ter representantes mais antigos do que qualquer outro gênero CAM. Assim, imagina-se que as plantas desse gênero possam estar entre as primeiras plantas CAM que surgiram. Baseados em análises morfológicas e anatômicas de fósseis mais recentes, existem algumas possíveis espécies CAM dentro das famílias Cactaceae, Bromeliaceae e Agavaceae.

O CAM e o epifitismo

Já está muito bem aceito que o CAM é um tipo de metabolismo vantajoso (ou até mesmo indispensável) para a vida em um ambiente desértico. No entanto, ele também se mostra uma estratégia bastante interessante mesmo dentro de florestas tropicais. Nesses locais, existem inúmeras espécies que vivem sobre as árvores – as chamadas epífitas. Essas espécies não possuem contato direto com o solo e nem parasitam a planta hospedeira, usando-a somente como apoio. Na verdade, o ambiente epifítico é bastante hostil porque, além de pobre em água, também é pobre em nutrientes, assim, para sobreviver nesse habitat, as plantas precisam de mecanismos eficientes para capturar e armazenar água. Como já foi mencionado, o CAM é um mecanismo eficiente de armazenamento de água.

Estudos muito interessantes foram feitos com dois taxa vegetais que apresentam grande quantidade de epífitas: Bromeliaceae e Orchidaceae. Nos dois estudos, buscou-se encontrar uma relação clara entre o epifitismo e a ocorrência do CAM. Pensando que a falta de água seria um fator limitante para a vida nesse ambiente, esperava-se encontrar uma maior proporção de plantas CAM epífitas, quando comparadas com as plantas terrícolas. Para as orquídeas, isso se mostrou verdadeiro: quanto mais plantas epífitas, maior a incidência do CAM. Para as bromélias, no entanto, parece não existir essa correlação. Inclusive, foi encontrada uma maior proporção de plantas CAM entre as bromélias terrícolas do que nas epífitas. Será que raciocinamos errado? Na verdade não, mas esquecemos de um detalhe. No caso das bromélias existe uma estrutura (não presente nas orquídeas) que talvez seja a maior responsável por alterar essa relação: o tanque.

O tanque das bromélias é formado pela sobreposição das bases das folhas, sendo capaz de acumular grandes quantidades de água e nutrientes. Assim, o CAM não se torna tão necessário assim como, por exemplo, para as orquídeas epífitas. O interessante é que as chamadas bromélias atmosféricas (epífitas sem tanque) são todas exclusivamente CAM. Entretanto, como visto anteriormente, muitas das espécies de bromélias consideradas C_3 podem também ser capazes de expressar o CAM em algumas situações ambientais ou em diferentes fases do desenvolvimento. Como esses trabalhos sobre o metabolismo das plantas são feitos em alguns indivíduos em condições ambientais e idades específicas do momento de coleta, é possível que o número de espécies capazes de expressar o CAM em algum momento da vida esteja subestimado nesses estudos. Assim, falta muito para ser estudado sobre metabolismo CAM, afinal de contas, esse tipo de fotossíntese deve ser mais comum do que parece.

Referências bibliográficas

Crayn MC; Winter K; Smith JAC. (2004) Multiple Origins of Crassulacean Acid Metabolism and the Epiphytic Habit in the Neotropical Family Bromeliaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 101(10): 3703-8.

Lüttge U. (2004) Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). **Annals of Botany** 93(6):629-52.

Silvera K; Santiago LS; Cushman JC; Winter K. (2009) Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae. **Plant Physiology** 149(4):1838-47.

Winter K; Holtum JAM. (2007) Environment or Development? Lifetime Net CO₂ Exchange and Control of the Expression of Crassulacean Acid Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. **Plant Physiology** 143(1) 98-107.

Winter K; Garcia M; Holtum JAM. (2008) On the Nature of Facultative and Constitutive CAM: Environmental and Developmental Control of CAM Expression During Early Growth of *Clusia*, *Kalanchoë*, and *Opuntia*. **Journal of Experimental Botany** 59(7):1829-40.



Anotações:



Como as Plantas se Defendem Frente à Infecção por Patógenos?

Alice Nagai

Bruna Silvestroni Pimentel

Os prejuízos econômicos causados pela infecção das plantas por fungos e bactérias são bem documentados. Sabe-se que os fungos são os maiores causadores de doenças em plantas. Um levantamento feito pelo Imperial College London e pela Universidade de Oxford aponta que as perdas nas culturas agrícolas de soja, arroz, milho, trigo e batata devido à infecção por fungos poderiam alimentar um grande contingente populacional, cerca de 600 milhões a quatro bilhões de pessoas. Tal levantamento reforça a importância dos estudos de interação planta/patógeno.

Vírus também são responsáveis por diversas perdas econômicas, mas é difícil a obtenção de dados a respeito dessas perdas uma vez que eles são menos conspícuos que outros patógenos. O estudo da interação entre a planta e o vírus é muito importante, pois os vírus podem infectar praticamente todas as espécies de plantas cultivadas e selvagens. Só para se ter uma ideia do prejuízo econômico causado pela infecção viral, dados do começo da década de 90 indicam que no Sudeste Asiático a cultura do arroz teve uma perda anual de mais de um trilhão de dólares. No entanto, houve um caso particular no século XVII que a infecção viral causou sintomas nas flores de tulipa devido à quebra na coloração e as flores que apresentavam esse padrão de pigmentação eram tidas como variedades especiais, levando ao fenômeno que ficou conhecido como “tulipomania”.

Nesse capítulo serão abordadas, mais especificamente, as infecções das plantas por vírus e por fungos e como as plantas respondem a isso, com enfoque no metabolismo das hospedeiras. Também serão citados alguns exemplos da influência desses patógenos no metabolismo secundário das plantas.

Os vírus que infectam as plantas são específicos para essas hospedeiras, embora um trabalho tenha sugerido que o *Pepper mild mottle virus* possa ter interagido com o sistema imune humano causando sintomas clínicos. Porém, são necessários mais estudos que reavaliem a patogenicidade dos vírus de plantas nos homens.

Para infectar as plantas, os patógenos precisam transpor a cutícula, a parede celular e várias outras formas de barreira física. Também existem barreiras químicas a serem transpostas, como metabólitos secundários tóxicos produzidos pelas plantas. Os vírus podem penetrar nas células da planta através de injúrias foliares por transmissão mecânica ou por insetos. Também podem ser transmitidos por propagação vegetativa ou por sementes contaminadas. Os fungos, por sua vez, secretam enzimas hidrolíticas, como cutinase, pectinases, hemicelulases, dentre outras para degradar os compostos da parede celular e penetrar nas células da planta.

Uma vez dentro da célula, os vírus precisam liberar o ácido nucleico e para tal a capa (lipo)protéica que os envolve é removida. Os fragmentos da capa proteica são eliciadores reconhecidos por receptores ou proteínas R localizados na membrana plasmática ou mesmo no citoplasma. Na infecção por fungos, sabe-se que diversas classes de componentes podem substituir completamente os eliciadores, incluindo oligo e polissacarídeos, como quitina, quitosana e seus fragmentos, xiloglucanos, laminarina e outros β -glucanos e seus fragmentos, oligogalacturonídeos, proteínas (harpina), derivados lipídicos (siringolídeo), dentre outros.

Os eliciadores dos patógenos iniciam vias de sinalização de infecção, as quais envolvem o ácido jasmônico, o ácido salicílico, o óxido nítrico, dentre outros sinalizadores, que irão ativar respostas de defesa na planta, como a produção de metabólitos secundários.

Em plantas de milho infectadas pelo Maize rough dwarf virus - Río Cuarto, observou-se o aumento da concentração de ácido jasmônico em relação às plantas saudáveis. O ácido jasmônico possui efeito estimulatório na produção de metabólitos secundários, como alcaloides, terpenos, compostos fenólicos e diversas outras substâncias envolvidas na defesa contra a infecção.

Uma vez infectada, a planta pode desenvolver uma resistência sistêmica adquirida (do inglês, SAR – systemic acquired resistance), sendo induzida pelo ácido salicílico e que envolve uma cascata de eventos transcripcionais.



Há, relativamente, poucos estudos que avaliam a influência viral no metabolismo secundário das plantas e ainda não há um padrão de resposta frente à infecção por vírus, podendo ocorrer aumento ou diminuição da concentração de determinado metabólito ou até mesmo nenhuma variação qualitativa ou quantitativa.

Em contrapartida, em plantas infectadas por fungos pode-se observar o aumento na concentração de compostos fenólicos de maneira geral. Isso foi observado em plantas de milho que tiveram concentração maior de substâncias fenólicas nas plantas infectadas por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) e *Helminthosporium maydis* Nisik and Miy; em plantas de maçã infectadas por *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint e em folhas de arroz da variedade IR36 infectadas por *Helminthosporium oryzae* Breda da Haan. Há uma hipótese a respeito do mecanismo de defesa das plantas frente a patógenos que prediz que os genótipos de hospedeiros resistentes tendem a sintetizar e/ou acumular maiores concentrações de fenólicos do que os susceptíveis quando expostos aos eliciadores de patógenos.

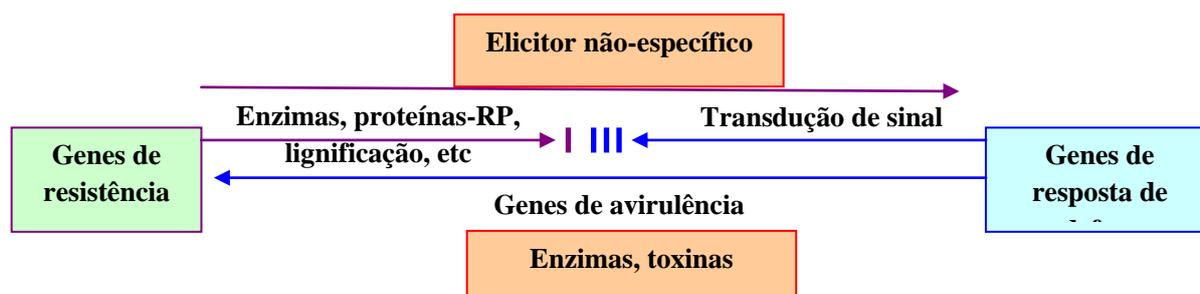
Em plantas de *Datura stramonium* infectadas pelo *Potato virus X*, houve diminuição da concentração de compostos fenólicos nas folhas inoculadas com o vírus (infecção local). Entretanto, houve aumento da concentração dessas substâncias nas folhas não inoculadas com o patógeno (infecção sistêmica) similarmente com a resposta obtida para infecção fúngica.

Os óleos voláteis são conhecidos por sua função de repelência contra insetos e diversas outras funções de proteção da planta, como ação contra vírus de plantas. O óleo volátil de *Melaleuca alternifolia* foi aplicado em *Nicotiana glutinosa* antes de ser inoculado o *Tobacco mosaic virus* e foi observado que houve diminuição no número de lesões causadas por esse vírus.

Há outros trabalhos que avaliaram a composição e a concentração dos óleos voláteis em plantas sadias e infectadas por vírus e são voltados para o valor econômico dessas substâncias na indústria. Eles observaram que esses patógenos podem causar a mudança na composição e/ou na concentração dos óleos voláteis alterando a fragrância, as propriedades farmacológicas e funcionais, causando a redução da sua qualidade. Esses trabalhos não correlacionam essas mudanças com a defesa da planta apesar de os óleos voláteis desempenharem papel de proteção como antivirais.

Outra classe de metabólitos secundários envolvida na defesa da planta é a dos alcaloides. O mesmo trabalho que avaliou a concentração de compostos fenólicos em *Datura stramonium* infectada pelo *Potato virus X* também avaliou a concentração de alcaloides totais, além de escopolamina e de atropina. Foi observado que houve diminuição da concentração de alcaloides totais e a escopolamina foi encontrada apenas em traço nas plantas infectadas. Apesar do papel de defesa desempenhado por essas substâncias, houve diminuição da concentração nas plantas infectadas, provavelmente porque a infecção viral desvia o uso dos aminoácidos e dos nucleotídeos da hospedeira para a síntese de proteínas e ácidos nucleicos virais.

Há alguns micro-organismos, principalmente fungos e bactérias, que convivem “harmoniosamente” no interior das plantas sem manifestações visíveis de doença (associação assintomática) estabelecendo uma relação simbiótica. Tais micro-organismos são denominados endofíticos, sendo que nessa relação há um equilíbrio entre os fatores de virulência e as respostas de defesa da planta. Entretanto, se houver um desequilíbrio nessa relação, pode ocorrer a patogenicidade. Então, os mecanismos de defesa da planta podem ser mais eficientes, ocasionando a morte ou a atenuação dos patógenos ou os fatores de virulência podem se sobressair, causando a doença da planta, conforme mostra o esquema a seguir.





Na interação planta-patógeno, os mecanismos de defesa das hospedeiras surgiram, provavelmente por mutações hereditárias, seleção natural e mudanças evolucionárias. As mutações produziram substâncias do metabolismo que não eram tóxicas para as plantas, não eram tão custosas energeticamente e as plantas que as possuíam deixavam mais descendentes do que as que não as produziam, devido à proteção extra contra os patógenos. Tais mutações foram passadas de geração em geração, proporcionando às plantas um eficiente sistema de defesa. Interessantemente, as substâncias que proporcionam defesa contra os patógenos são responsáveis por características não desejáveis nas plantas que são consumidas como alimentos pelo homem. Dessa forma, as culturas alimentícias foram melhoradas de modo a possuírem baixas concentrações das substâncias de defesa, tornando-as suscetíveis a infecções, pois a relação de equilíbrio explicada no parágrafo anterior é desfeita, havendo o predomínio dos fatores de virulência que irão causar as doenças nas plantas.

Referências Bibliográficas

- Bishop, C. D. (1995). Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden amp; Betche) Cheel (Tea Tree) against *Tobacco Mosaic Virus*. **Journal of Essential Oil Research** 07:641-644.
- Colson, P.; Richet, H.; Desnues, C.; Baliq, F.; Moal, V.; Grob, J. J.; Berbis, P.; Lecoq, H.; Harlé, J. R.; Berland, Y.; Raoult, D. (2010). Pepper mild mottle virus, a plant virus associated with specific immune responses, fever, abdominal pains, and pruritus in humans. **Plos one** 05:e10041.
- Duarte, L. M. L.; Salatino, M. L. F.; Salatino, A.; Negri, G.; Barradas, M. M. (2008). Effect of *Potato virus X* on total phenol and alkaloid contents in *Datura stramonium* leaves. **Summa Phytopathol.** 34(01):65-67.
- Hull, R. (2009). **Comparative plant virology**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 376p.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2009). **Fisiologia vegetal**. 4ed. Artmed.
- Vigliocco, A.; Bonamico, B.; Alemano, S.; Miersch, O.; Abdala, G. (2002). Stimulation of jasmonic acid production in *Zea mays* L. infected by the maize rough dwarf virus – Río Cuarto. Reversion of symptoms by salicylic acid. **Biocell.** 26:369-374.



Anotações:



Os Estudos da Flor

José Hernandes Lopes-Filho

Juliana El Ottra

Karina Bertechine Gagliardi

Keyla Rodrigues

Thália do Socorro Serra Gama

Os estudos da flor dentro do contexto dos estudos de biologia comparativa tiveram seu início com os trabalhos de J. W. von Goethe, na área da morfologia, e com C. K. Sprengel, na área de biologia floral. Passados cerca de dois séculos desse início, os estudos sobre a flor hoje abrangem diversas áreas da biologia, como a anatomia, desenvolvimento, biologia da polinização, biologia reprodutiva, genética, biologia molecular, paleobotânica e estudos de diversidade e evolução. Com o avanço da tecnologia nas últimas décadas, notadamente com a microscopia eletrônica e com o desenvolvimento de novas metodologias nos estudos de genética e biologia molecular, novas e fascinantes descobertas têm sido feitas. Dado que são diversas as áreas que estudam a flor, é difícil sintetizar tudo o que se conhece hoje sobre essa estrutura tão importante para a reprodução em Angiospermas. Assim sendo, aqui daremos destaque, sobretudo para os estudos sobre morfologia e anatomia bem como mecanismos moleculares envolvidos na floração e estruturas secretoras associadas.

Morfologia

A flor é um ramo altamente modificado, apresentando apêndices especializados. É uma estrutura vegetal bastante complexa, na medida em que esta apresenta diferentes regiões, com estrutura e funções diversas. Basicamente uma flor desenvolvida possui três principais conjuntos: o perianto (sépalas e pétalas), o androceu (estames) e o gineceu (carpelos), estando estas estruturas organizadas de maneira verticilada (mais comum) ou espiralada (mais raro, presente no grupo das Angiospermas basais). As sépalas que em conjunto formam o cálice são localizadas mais externamente na flor, seguida mais internamente das pétalas, constituintes da corola, depois estames e no centro da flor localizam-se os carpelos. Androceu e gineceu são os verticilos férteis da flor, na medida em que estes portam os microgametófitos e os megagametófitos, os quais produzem os núcleos espermáticos e a oosfera, que são as células reprodutivas ou gametas, respectivamente.

A grande diversidade de formas florais encontradas em Angiospermas se origina das variações encontradas dentro do plano morfológico básico supracitado. Assim, as flores podem ser solitárias ou agrupadas em inflorescências, sendo que o número e o arranjo dos órgãos florais, bem como sua forma e fusões entre verticilos, determinam em grande parte as diferentes estruturas florais encontradas na natureza. Também a diferenciação de novas estruturas na flor, oriundas de modificações nos verticilos tradicionalmente reconhecidos, pode ocorrer, gerando estruturas como as coronas (apêndices petalares e/ou estaminais, comum em grupos como Velloziaceae, Passifloraceae e Apocynaceae).

Também sobre os órgãos florais pode ocorrer a diferenciação de estruturas glandulares, produtoras de secreção, dos mais variados tipos e formatos. Dentre as estruturas secretoras da flor, podem ser citadas as que servem como recursos e/ou atraentes à animais que visitam a flor, como os nectários (secretam o néctar, substância açucarada), oosmóforos (secretam compostos voláteis), elaióforos (secretam substâncias lipídicas), e as glândulas de resina.

Os verticilos florais podem apresentar-se livres ou fundidos, sendo conatos quando a fusão ocorre no mesmo verticilo e adnatos, quando a fusão ocorre em verticilos diferentes. Como resultado da união dos verticilos, arquiteturas bastante complexas podem ser geradas, e adicionalmente às mudanças da forma no desenvolvimento, torna-se às vezes difícil o reconhecimento da identidade de cada um dos quatro verticilos florais na estrutura floral desenvolvida. Como exemplos desses casos, pode-se citar: o ginostêmio das Orchidaceae, resultante da fusão do androceu e estilete; a flor de *Canna indica* (Cannaceae) onde o estilete petalóide é unido ao estame; e o ginostégio de muitas Apocynaceae, resultante da união das anteras com o estilete.

Adicionalmente as alterações na arquitetura floral, as colorações dos verticilos florais são também notavelmente diversas. A corola é verticilo que comumente apresenta maiores variações de cor dentre as Angiospermas, sendo tal fato associado à atração visual de certos polinizadores. A coloração nas pétalas pode ser gerada pela presença de antocianinas, antoxantinas ou ainda betalainas, dentre outras substâncias, acumuladas no vacúolo, ou ainda carotenos e xantofilas presentes no interior dos cromoplastos ou cloroplastos, no citoplasma. Geralmente as células que apresentam estes



pigmentos localizam-se na epiderme. Outros mecanismos que tornam as pétalas mais vistosas são a presença de espaços intercelulares que refletem a luz, ou ainda superfícies com papilas e concavidades gerando o efeito aveludado da superfície.

Desenvolvimento

O meristema apical caulinar (MAC) pode ser vegetativo (figura 1), quando dá origem aos tecidos e órgãos vegetativos, ou reprodutivo, quando sofre modificações induzidas por uma cadeia de estímulos, originando os tecidos e órgãos florais. As células do meristema em geral caracterizam-se por terem tamanho comparativamente menor, e por possuírem parede primária, plastos indiferenciados e citoplasma denso.

A transição de um meristema vegetativo para um floral envolve modificações morfo-anatômicas conspícuas, sobretudo relacionadas à interrupção do crescimento indeterminado, característico do estágio vegetativo, e a produção dos apêndices florais, bem como da produção de folhas vegetativas e ocorrência de um maior alongamento dos entrenós.

No crescimento vegetativo, após a formação de cada folha, o meristema cresce de forma a restaurar o tamanho original antes da formação da próxima folha. No entanto, durante o desenvolvimento da flor o meristema diminui gradualmente após a formação de cada peça floral, até ser completamente diferenciado na formação do último verticilo, embora algumas espécies possam reter um resquício de tecido meristemático que permanece inativo (figura 2). Durante o desenvolvimento, os órgãos florais surgem no ápice do meristema floral de modo ordenado, muitas vezes refletido em um rápido alongamento do eixo, que formará a inflorescência, seguido pela ampliação e achatamento dos meristemas que darão origem às flores.

As peças florais se encontram dispostas tipicamente em uma ordem específica, o padrão mais comumente encontrado é o surgimento dos primórdios dos verticilos em sequência centrípeta e acrópeta, com a formação em ordem, de sépalas, pétalas, estames e carpelos (figura 2). Contudo, variações nesse padrão podem ser encontradas. Os primórdios de todos os verticilos florais têm aspecto de um domo semi-esférico ou estes são lateralmente achatados, sendo estes estágios iniciais similares para todos os tipos de órgãos. A iniciação dos primórdios é visível histologicamente, como áreas intensamente coradas no meristema floral (figura 2). A formação do primórdio de um verticilo induz a diferenciação de um feixe procambial, que mais tarde se tornará o feixe vascular principal (mediano ou dorsal) do órgão. O feixe procambial recém formado se conecta com um ou mais feixes vasculares mais desenvolvidos, localizados mais abaixo na base da flor ou pedicelo. Durante o crescimento do órgão, mais feixes de procâmbio podem se diferenciar.

Muitas vezes os primórdios florais de um mesmo verticilo podem surgir inicialmente unidos como uma projeção anular do meristema floral (*e.g.*: tubo corolino), resultante da fusão dos meristemas individuais de cada verticilo. Este tipo de fusão é denominado de fusão congênita, e é evidente somente nos estágios iniciais de desenvolvimento floral. Diferente da união congênita dos primórdios florais, outra, por meio da união posgênita, tem sido observada nos diferentes verticilos florais, que ocorre quando estes se tornam unidos após surgirem e experimentarem o desenvolvimento como peças livres, ocorrendo apenas posteriormente à união por meio da adesão das margens dos verticilos, podendo ocorrer ou não a fusão completa destas (*e.g.* margens dos carpelos de diversas Angiospermas, falsa simpetalia em *Correa*, *Oxalis*, *Conhocarpus*; anteras de Asteraceae).

Sépalas e pétalas têm ontogênias diferentes: enquanto que o surgimento dos primórdios do cálice ocorre em sequência espiral, as pétalas apresentam surgimento verticilado de seus primórdios. Quanto à vascularização, sépalas geralmente apresentam três feixes vasculares, enquanto que pétalas possuem apenas um, podendo se ramificar em maior número posteriormente, havendo variados desvios a esse padrão.

Os estames, após o desenvolvimento de seu primórdio, diferenciam primeiramente a região da antera para apenas depois diferenciar a porção do filete. Estes são vascularizados por apenas um feixe vascular por estame. Nos casos onde ocorre androceu polistêmonico (*i.e.*: número de estames muito superior ao merismo básico da flor, mais que o dobro do número de pétalas) o desenvolvimento dos primórdios ocorre por fragmentação do número básico inicial dos primórdios de estame.

Quanto ao desenvolvimento do carpelo, este apresenta inicialmente uma zona de cruzamento, que corresponderia à margem foliar onde o óvulo se desenvolve em sua superfície interna, e uma zona secundária, onde as demais porções se desenvolverão. Quando desenvolvido o carpelo apresenta duas regiões básicas: a porção plicada, correspondente à região do estilete e estigma (geralmente de formato mais ou menos cilíndrico), e a porção ascidiada, correspondente ao ovário (formato arredondado). Mas há exceções a esse padrão, por exemplo, em Austrobaileyaceae o carpelo não possui zona



plicada (não há um estilete e estigma diferenciado), sendo o fechamento do carpelo incompleto e o ápice com um estigma funcional secretor. Ainda que a características mais marcantes de Angiospermas seja a presença de óvulos protegidos por carpelos, muitas vezes o fechamento da folha carpelar ocorre apenas durante as etapas finais de sua ontogenia.

Quanto à vascularização, o carpelo apresenta geralmente três feixes vasculares, um dorsal (que se prolonga até o estilete, podendo ocorrer ramificações) e dois ventrais (que irrigarão o óvulo), no entanto variações quanto ao número e posição de feixes podem ocorrer.

O gineceu pode ser unicarpelar, proveniente do desenvolvimento de apenas um primórdio, como, por exemplo, em Leguminosae, bem como pode ser pluricarpelar, sendo gerado a partir de vários primórdios. Neste último caso os primórdios dos carpelos podem ser livres e o gineceu denominado de apocárpico (*e.g.*: Dilleniaceae) ou unidos de variadas formas e por diferentes extensões, sendo o gineceu denominado de sincárpico (*e.g.*: Bromeliaceae, Bignoniaceae), sendo que estas uniões podem ocorrer de maneira congênita ou posgênita. Mais comumente são encontrados gineceus sincápicos com porção basal unida congenitamente e porções apicais unidas posgenitalmente.

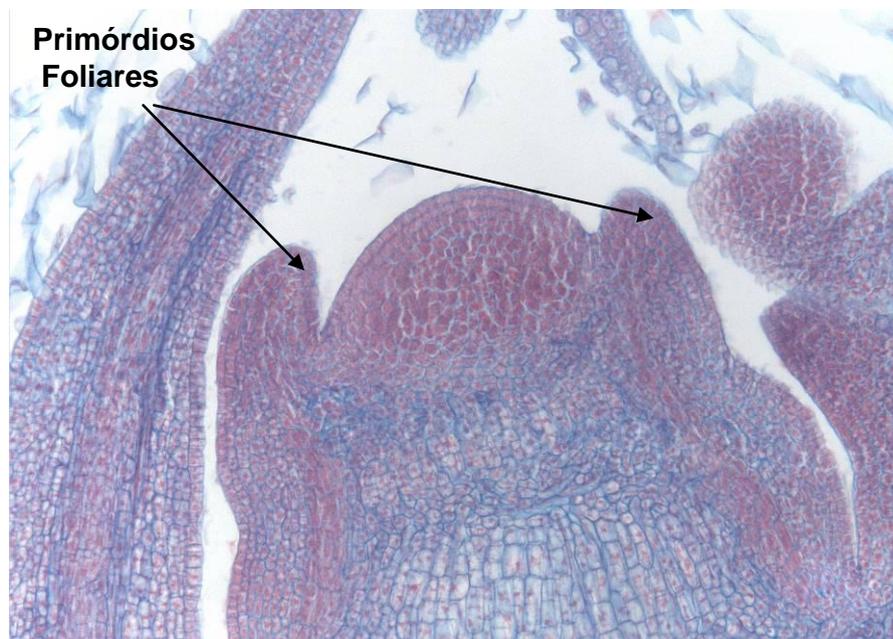


Figura 1: Meristema apical caulinar vegetativo de *Asclepias curassavica* (foto de Diego Demarco)

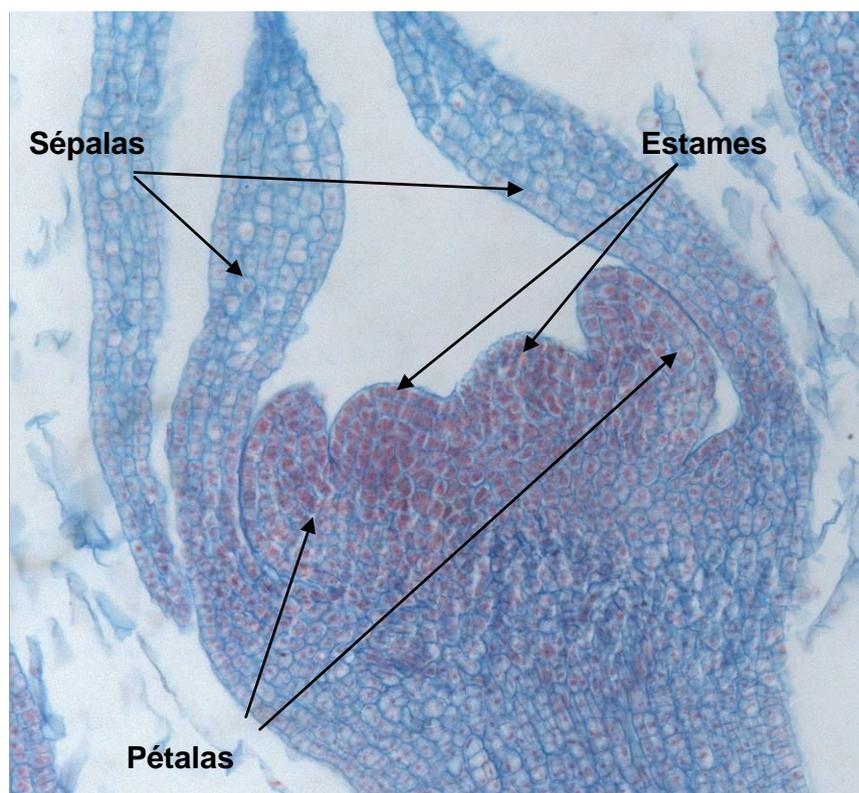


Figura 2: Botão floral jovem de *Asclepias curassavica* (foto de Diego Demarco)

Mecanismos moleculares responsáveis pelo desenvolvimento floral

Com o advento da biologia molecular, alguns dos principais mecanismos de controle do desenvolvimento vegetal foram elucidados. No que se refere ao desenvolvimento reprodutivo, muito do que se conhece hoje foi obtido com estudos realizados com *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) e *Antirrhinum majus* (Plantaginaceae), chamadas de plantas modelo. O estudo exaustivo, sobretudo de linhagens mutantes dessas plantas, resultou na descoberta de muitos genes e seus modos de atuação no desenvolvimento vegetal. Os tópicos abordados a seguir são válidos, sobretudo para estas plantas modelo, mas em grande parte são conservados ao longo das angiospermas e muitas vezes podem ser extrapoladas para diversos de seus grupos.

Indução floral

A floração é um fenômeno que ocorre de forma coordenada na vida das plantas e depende de uma série de fatores, sejam endógenos (níveis de expressão de determinados genes), ou exógenos (temperatura, fotoperíodo, hormônios).

O fotoperíodo, ou seja, a duração do ciclo claro/escuro é um dos mais importantes mecanismos, conhecido há bastante tempo como fator crucial na determinação da indução floral. Desta maneira, algumas plantas são classificadas como de dias curtos, isto é, florescendo quando os dias são curtos e as noites longas (inverno), enquanto outras são de dias longos (verão).

Através de diversos experimentos, foi constatado que a percepção do fotoperíodo ocorre nas folhas e de alguma maneira essa informação é transmitida até os meristemas vegetativos, onde desencadeia mudanças que resultam na formação de flores. Foi então estabelecido o conceito de “florigeno”, um hormônio que seria responsável por esta transmissão de informação. Por muito tempo, diversos pesquisadores buscaram por este elusivo hormônio sem sucesso. Contudo, recentemente foi elucidado o mecanismo pelo qual o fotoperíodo influencia na floração.



Resumidamente, a floração depende de um relógio circadiano endógeno que controla a variação expressão de uma rede de genes. O gene diretamente ligado ao relógio, *TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1)*, oscila sua expressão conforme o mesmo, independente do ciclo de luz. Contudo, um dos genes controlado por *TOC1* transcreve para a proteína *CONSTANS (CO)*, que é degradada durante a fase escura do ciclo (figura 3). Por fim, *CO* induz a expressão de outro gene, *FLOWERING LOCUS T (FT)*, cuja proteína é transportada das folhas até os meristemas. Desta maneira em plantas que florescem em dias curtos, *FT* age como indutor de floração, enquanto que em plantas de dias longos, *FT* atua como repressor.

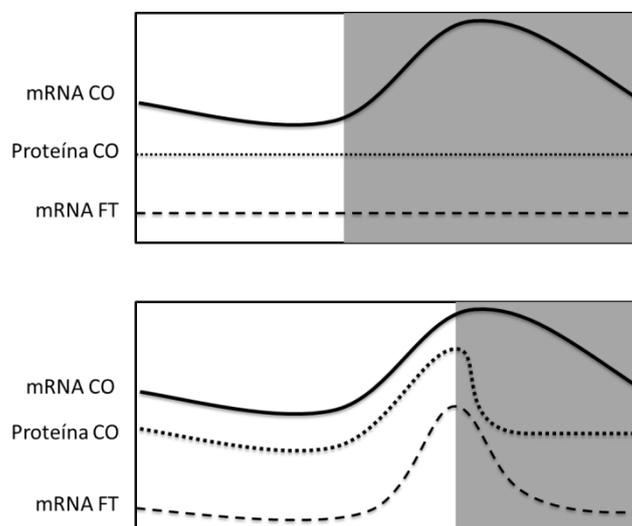


Figura 3. Representação esquemática da expressão de *CO* e *FT* em diferentes regimes de fotoperíodos. Dia curto: embora *CO* expresse normalmente, sua proteína é degradada durante a noite, não sendo capaz de induzir *FT*. Dia longo: Não há alteração na expressão de *CO*, mas sua proteína é capaz de se manter íntegra, promovendo a expressão de *FT*.

Além do fotoperíodo, geralmente em regiões que passam por um período severo de inverno, é importante um mecanismo que assegure que a floração ocorra apenas após o inverno. O processo pelo qual a temperatura atua na floração é denominado de vernalização, e seu mecanismo não é tão bem conhecido quanto ao do fotoperíodo, embora pareça estar ligado a mudanças na expressão gênica devido à condensação da cromatina durante os períodos de frio mais intenso.

Por fim, muitas plantas podem entrar em floração independentemente dos estímulos exógenos devido a um aumento, intrínseco e constante durante seu desenvolvimento, na expressão de genes responsáveis pela indução floral, especialmente o gene *LEAFY (LFY)*.

Identidade e manutenção do meristema floral

Como mencionado anteriormente, o MAC pode possuir diferentes identidades, sendo elas: (1) meristema vegetativo (MV); (2) meristema da inflorescência (MI); (3) meristema floral (MF). Sendo que na prática, o que diferencia esses meristemas é o comportamento de sua atividade, sobretudo no que diz respeito ao tipo de primórdios produzidos.

Desta maneira, um MV é característico por produzir folhas (com seus respectivos meristemas axilares), enquanto um MI produz brácteas e/ou meristemas florais. O MF por sua vez produz os órgãos florais (sépalas, pétalas, estames e carpelos) e finalmente cessa sua atividade. Como normalmente as flores são produzidas em inflorescências, geralmente o processo de floração envolve os dois processos de transição meristemática (MV→MI→MF), que são caracterizados por mudanças na expressão de genes regulatórios da atividade do meristema e da manutenção ou não de uma população de células com características meristemáticas.

Os genes responsáveis pela transformação e manutenção do meristema floral são chamados de “floral meristem identity (FMI) genes” (genes de identidade do meristema floral), sendo os principais: *LFY*, *APETALA1 (API)*, *CAULIFLOWER (CAL)* e *FRUITFULL (FUL)*. Todos esses genes codificam para proteínas que agem como fatores de



transcrição, regulando a expressão de uma infinidade de genes, e que resulta por fim no desenvolvimento adequado dos órgãos reprodutivos.

O gene *LFY* parece ser o pivô na transição para o meristema floral, sendo observado um aumento drástico em sua expressão, que ocorre de maneira uniforme em todo o meristema. Este gene atua como fator de transcrição para uma série de outros genes relacionados à floração, em especial *API*, *AP3* e *AGAMOUS (AG)*, genes do modelo ABC (ver próximo tópico). Uma vez que *API* também induz a expressão de *LFY*, uma rede de feedback positiva é criada, assegurando que, uma vez desencadeado, o processo de estabelecimento do MF é mantido até o final.

Outros genes também atuam de forma crucial para a atividade do meristema floral, como *AG*, que promove o fim da proliferação de células meristemáticas após o desenvolvimento dos carpelos.

Por fim, embora desempenhe papel antagonista aos de identidade floral, reprimindo a expressão de *LFY* e *API*, o gene *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)*, desempenham papel fundamental para o desenvolvimento reprodutivo. Entre outras atividades, *TFL1* impede que *LFY* e *API* transformem um MI em MF. Desta maneira, muitas das arquiteturas de inflorescência observadas na natureza resultam do balanço entre as expressões dos genes de identidade floral (*LFY* e *API*) e seu repressor *TFL1*.

Determinação dos órgãos florais e o modelo ABC

A partir de estudos baseados em plantas modelo, foram descobertas linhagens de mutantes que exibiam mutações homeóticas em suas flores (mutações que produzem um órgão onde normalmente se encontraria outro). Após o estudo de diversas linhagens, notou-se que as mutações homeóticas em flores sempre afetavam dois verticilos adjacentes, e nunca um apenas. Embora muitos mutantes tenham sido reconhecidos, todos se encaixavam em 3 categorias: (A) sépalas e pétalas eram substituídas por carpelos e estames, respectivamente; (B) pétalas e estames eram substituídos por sépalas e carpelos; e (C) estames e carpelos eram substituídos por pétalas e sépalas.

Desta maneira, foi estabelecido o chamado “modelo ABC” da determinação dos órgãos florais (figura 4). O modelo propõe que a expressão de genes classe A determina a formação de sépalas; a atividade conjunta de A e B especifica a formação de pétalas; B e C combinados determinam estames e a atividade de apenas C resulta na formação de carpelos. O modelo também propõe uma regulação negativa entre A e C, e a expressão de B nos verticilos 2 e 3 independentemente dos outros fatores do próprio modelo.

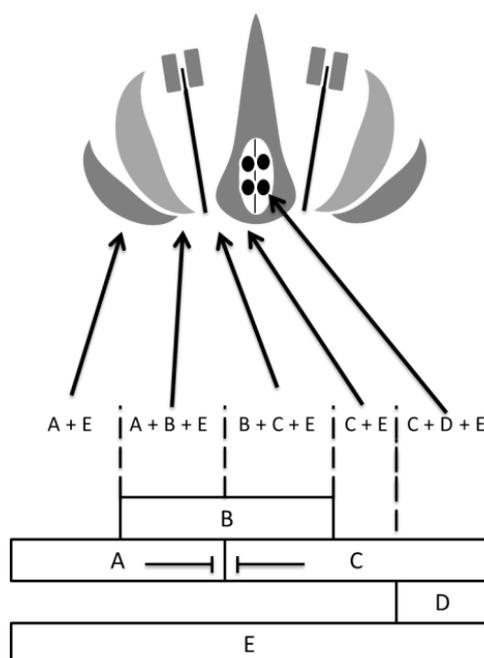




Figura 4. Representação esquemática do modelo ABC em *Arabidopsis thaliana*. A combinação de diferentes classes de genes é responsável pela determinação dos órgãos florais.

Em *Arabidopsis*, os genes *APETALA1* (*AP1*) e *APETALA2* (*AP2*) correspondem à função de A; *APETALA3* (*AP3*) e *PISTILLATA* (*PI*) à função de B; *AGAMOUS* (*AG*) para a função de C.

Posteriormente, com a descoberta de outros genes envolvidos, foram incorporadas ao modelo as funções D, relacionada à identidade de óvulos, e E, necessária para a formação de todos os órgãos florais. Em *Arabidopsis* a função D é realizada pelo gene *SEEDSTICK* (*STK*), em redundância com os genes *SHATTERPROOF1* (*SHP1*), *SHP2* e *AG*. Já função E é realizada pelos genes *SEPALLATA1* (*SEP1*), *SEP2* e *SEP3*.

Hoje, sabemos que muitos desses genes são fatores de transcrição que orquestram a expressão de uma infinidade de outros genes responsáveis por desenvolver corretamente cada órgão floral. Sabemos ainda que muitos desses genes atuam conjuntamente formando heterodímeros. Desta maneira, um complexo formado por proteínas AP1 e SEP, por exemplo, é responsável pela regulação de genes que no final resultarão no desenvolvimento de uma sépala.

Por fim, estudos com o silenciamento de genes da classe E (*SEPALLATA*) mostram que na ausência do mecanismo que leva à formação dos órgãos florais, os primórdios derivados do meristema floral transformam-se em flores com quatro verticilos de órgãos morfológicamente semelhantes às folhas. Tal resultado corrobora as teorias anteriormente propostas sobre a homologia dos órgãos florais com as folhas do corpo vegetativos da planta. Notavelmente a equivalência entre folhas e flores foi primeiramente propostas pelo filósofo alemão J. W. Goethe, em 1790.

Estruturas Secretoras Florais

A flor, assim como as demais partes das plantas, podem apresentar estruturas secretoras nos diferentes verticilos florais, bem como na inflorescência. As secreções (ou exsudatos) que estas produzem são provenientes de processos metabólicos, que incluem os processos de síntese, isolamento de substâncias e posterior liberação, tanto nos espaços extracelulares no interior do órgão em que esta é formada, como para o exterior da planta. Estes exsudatos apresentam composições químicas bastantes variadas, podendo apresentar, por exemplo, água, proteínas, óleos, néctar, látex, substâncias salinas, resinas etc. As células secretoras presentes no órgão de onde são liberados estes exsudatos apresentam, geralmente, características histológicas, como ausência de parede celular secundária, citoplasma de aspecto denso e núcleo relativamente grande, em relação ao citoplasma.

As estruturas secretoras podem apresentar-se como uma célula individualizada (idioblastos) ou em uma estrutura multicelular (tricomas, emergências, cavidades e canais), sendo tais estruturas de reconhecida importância taxonômica e filogenética, uma vez que certos tipos são característicos de grupos de plantas, e servem como evidência de parentesco próximo entre as mesmas.

As estruturas secretoras florais podem possuir diferentes classificações quanto à sua posição e/ou função, não havendo universalidade quanto à utilização dos mesmos termos na literatura. Assim, quando localizada no interior da flor, é comumente chamada de estrutura secretora floral (*e.g.*: nectários florais) e quando localizada em outra região ou nas proximidades da flor (inflorescências), pode ser chamada de extrafloral (*e.g.*: nectários extraflorais). De modo semelhante, quando a função da estrutura está relacionada à polinização, é denominada de nupcial (*e.g.*: nectário nupcial), e quando não apresenta tal função, é extranupcial (*e.g.*: nectários extranupciais), podendo estar envolvidas em outras funções, como por exemplo, mecanismos de defesa anti-herbivoria. Muitas vezes a confusão no uso destas terminologias provém da ausência de dados sobre a função das estruturas secretoras florais.

Nas flores, várias estruturas secretoras são conhecidas, as mais comumente encontradas são:

Os nectários, que são tecidos especializados na produção de néctar. Estes podem ser visualizados a partir de uma gama de estruturas, morfológicamente e anatomicamente diversas. Os nectários intraflorais, frequentemente apresentam-se em forma de um anel basal contínuo ao redor do ovário.

A composição do néctar é variável, porém este é constituído, de modo geral, por sacarose, glicose e frutose, mas mucilagem, aminoácidos, proteínas, íons minerais, vitaminas, enzimas e ácidos orgânicos também podem ser encontrados. A presença do néctar floral está tradicionalmente associada à atração de polinizadores nectarívoros, no entanto pode



apresentar outras funções como indução da germinação dos grãos de pólen dentro da câmara estigmática, bem como sua presença em nectários no cálice tem o potencial de atrair formigas protetoras contra herbívoros.

O tecido transmissor é o tecido através do qual os tubos polínicos crescem até chegar à micrópila do óvulo, havendo uma relação nutricional ou fisiológica com os tubos polínicos. É definido como uma parte do gineceu que se estende do estigma ao ovário, podendo ser parcial ou inteiramente secretor e composto por três regiões: estigmática, estilar e ovariana. Embora a presença de tecido transmissor e o caminho percorrido pelo tubo polínico através do gineceu de flores sejam bem conhecidos, há raras informações estruturais sobre estes tecidos e quase nenhuma sobre as secreções produzidas por eles, sendo que há relatos de presença de secreção mucilaginosa tanto na região estigmática como na estilar.

Além das estruturas secretoras florais acima citadas, há também outras como elaióforos, coléteres, laticíferos, osmóforos, além dos tecidos secretores de resina. Tais estruturas produzem secreções relacionadas à atração e nutrição de visitantes florais ou atração de formigas protetoras da planta.

Os estudos comparativos das estruturas secretoras florais em diversos grupos de plantas permitem-nos compreender não apenas os aspectos funcionais destas secreções, mas também as alterações graduais que ocorreram nestas estruturas ao longo da história evolutiva dos grupos que as possuem. Por exemplo, alterações na localização do nectário, composição do néctar e seu local de acúmulo pode apresentar relação às mudanças evolutivas quanto a diferentes tipos de polinizadores; também, na evolução de carpelos apocápicos para sincápicos ou parcialmente sincápicos, foram observadas alterações no trajeto dos tecidos transmissores no interior do gineceu, e conseqüentemente no direcionamento dos tubos polínicos, podendo promover a fecundação dos óvulos de um ou mais lóculos do ovário devido ao surgimento de um compositum (estrutura oriunda da união de todos os tecidos transmissores dos carpelos).

Referências bibliográficas

- Angenent G. C; Colombo L. (1996)Molecular control of ovule development. **Trends in Plant Science 1: 228 – 232.**
- Blázquez M; Ferrándiz C; Madueño F. & Parcy F. (2006) How Floral Meristems are Built. **Plant Molecular Biology 60: 855 – 870.**
- Coen E. S; Meyerowitz E. M. (1991) The War of the Whorls - Genetic Interactions Controlling Flower Development.**Nature 353:31 – 37.**
- Demarco D; Kinoshita, LS; Castro, M de M. (2006) Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. **Revista Brasileira de Botânica29:133-144.**
- Endress P.K. (1994) Diversity and evolutionary biology of tropical flowers.**Cambridge University Press, 511p.**
- Eames A.J. (1961) Morphology of Angiosperms.**McGraw- Hill, New York, 518p.**
- Fahn A. (1979) Secretory tissues in plants.**Academic Press.**
- Heil H. (2011) Nectar: generation, regulation and ecological functions. **Trends in Plant Science 16 (4): 191-199.**
- Irish V. F. (2010)The flowering of Arabidopsis flower development. **Plant Journal61: 1014 – 1028.**
- Leins P; Erbar C. (2010) Flower and Fruit: Morphology, Ontogeny, Phylogeny, Function and Ecology. **Schweizerbart science publishers, Stuttgart439p.**
- Leyser O; Day S. (2003) Mechanisms in Plant Development.**Blackwell Publishing, Oxford.**
- Rijkema A. S; Vandenbussche M; Koes R; Heijmans K; Gerats T. (2010) Variations on a theme: Changes in the floral ABCs in angiosperms. **Seminars in Cell & Developmental Biology21: 100 - 107.**



Vogel S. (1990) The role of scent glands in pollination. On the structure and function of osmophores. Translated by J.S. Bhatti, **Amerind Publishing, New Delhi.**

Weberling F. (1989) Morphology of flowers and inflorescences. **Cambridge University Press, Cambridge.**



Anotações:



Folha: Desenvolvimento e Estrutura

Aline Siqueira Nunes
Juliana Castelo Branco Brasileiro
Mariane Sousa Baena
Rafael Cruz

Origem das plantas terrestres e as primeiras folhas

As primeiras evidências de vegetais terrestres encontradas são esporos, datados de 460 milhões de anos, cuja morfologia sugere que foram produzidos por plantas parecidas com hepáticas. Por volta de 420 milhões de anos atrás, fósseis mostram que as plantas ainda apresentavam uma estrutura bastante simples com ramos aéreos já providos de células condutoras de água, sendo um fóssil de *Cooksonia* o primeiro registro de planta vascular encontrado. As primeiras plantas terrestres não possuíam folhas, sendo compostas apenas de estruturas caulinares e, de acordo com a teoria do teloma de Zimmermann, as folhas teriam surgido através de uma redução de um sistema de ramos laterais. Primeiramente, houve uma modificação da estrutura dicotômica para a formação de um eixo principal e ramos laterais (*overtopping*). Em seguida, os ramos que se posicionavam formando uma estrutura tridimensional ficaram restritos a apenas um plano (*planation*) e, por fim, tecido parenquimático fotossintetizante começa a se formar entre os ramos, ligando-os (*webbing*), Figura 1.

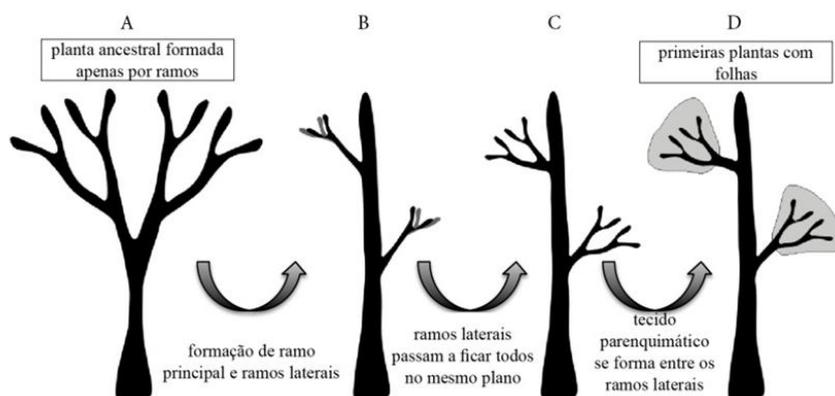


Figura 1: Esquema ilustrando o surgimento das folhas a partir de uma planta ancestral que apresentava apenas ramos segundo a teoria do teloma. A. Planta formada apenas por ramos, com padrão de ramificação dicotômico. B. Planta formada de um eixo principal e ramos laterais. C. Os ramos sofrem uma modificação em sua estrutura, estando agora posicionados em apenas um plano. D. Congregação de tecido parenquimático (em cinza) entre os ramos, formando a lâmina foliar.

Plantas com folhas evoluíram há 410 milhões de anos e os microfósseis de *Baragwanathia longifolia* foram as primeiras estruturas foliares encontradas no registro fóssil. Durante o período Devoniano (~420-350 milhões de anos) ocorreu uma explosão de diversidade nas plantas e surgiram características que possibilitaram que plantas terrestres, antes ocupando apenas áreas úmidas, pudessem colonizar áreas mais secas. Nesse período, folhas de formas mais complexas evoluíram a partir de folhas incipientes e, como conferiam uma vantagem adaptativa ao ambiente terrestre, foram mantidas ao longo da evolução. Atualmente podemos dividir as folhas em simples ou compostas, sendo que as folhas simples possuem lâminas foliares inteiras e as folhas compostas apresentam a lâmina subdividida em folíolos. A subdivisão da lâmina foliar em folíolos maximiza a área fotossintética e diminui a tensão mecânica potencial que



uma superfície única e inteira, como as lâminas simples, sofreria. Atualmente, quase todas as plantas vasculares possuem folhas e as espécies afilas (sem folhas) evoluíram através de perda secundária a partir de um ancestral que possuía folhas. Entretanto, as plantas afilas, em geral, desenvolveram outras estratégias fotossintéticas como caules ou raízes fotossintetizantes.

Diferentemente dos animais, que apresentam crescimento fechado e determinado, os vegetais apresentam crescimento aberto e indeterminado. A forma geral que vemos nos animais adultos é determinada no início do desenvolvimento e uma vez que os animais se tornam adultos (capazes de se reproduzir), sua forma não mudará muito ao longo de sua vida. Por outro lado, as plantas continuam a crescer por toda a vida e sua forma geral não é definida na fase embrionária. Dessa forma, seu desenvolvimento é dito indeterminado. Além disso, seu número de partes não é fixo (é, na maior parte das vezes, impossível predizermos quantos galhos ou folhas uma árvore adulta possuirá) sendo assim também denominado aberto. Os animais, ao contrário, têm uma forma corporal pré-programada e com número de partes definido (por exemplo, seres humanos terão cinco dedos em cada mão), sendo considerados, portanto, de crescimento fechado. As plantas têm essa capacidade de crescer durante toda a sua vida devido à retenção, na fase adulta, de regiões meristemáticas com potencial pra se multiplicar e formar tecidos. Essas zonas meristemáticas, denominadas meristema apical caulinar (MAC) e meristema apical radicular são posicionadas cedo no desenvolvimento. Um embrião vegetal é muito simples quando comparado ao de um animal, consistindo basicamente da radícula, hipocótilo, cotilédones, meristema apical caulinar e meristema apical radicular. É a partir da atividade desses dois meristemas apicais que todo o corpo da planta adulta se forma após a germinação da semente e mutações que suprimem a formação de um deles, em geral, são fatais.

Especificamente, a arquitetura primária das partes aéreas da planta é derivada do meristema apical caulinar, o qual produz folhas, internós e gemas axilares. Diferenças aparentemente simples na iniciação do órgão a partir do MAC podem resultar em morfologias dramaticamente divergentes. Dessa maneira, a organização e manutenção do meristema continuam a ser uma questão fundamental nos estudos de desenvolvimento das plantas.

Ontogênese foliar

O desenvolvimento foliar pode ser dividido em quatro estágios: iniciação, diferenciação inicial, desenvolvimento do eixo da folha e, por fim, origem e histogênese da lâmina foliar. A iniciação da folha ocorre por meio de divisões que ocorrem em um pequeno grupo de células lateralmente situadas em relação ao ápice do caule, o que resulta na formação do primórdio foliar. Este primórdio, que consiste em uma protoderme, uma região central de tecido fundamental e procâmbio tem a forma de um pequeno cone, com a face adaxial achatada. As células apicais do primórdio foliar apresentam diferenciação relativamente rápida, sendo grande parte do crescimento no sentido próximo-distal dado por crescimento intercalar. O crescimento em comprimento do eixo é acompanhado pelo aumento na largura, como resultado de divisões celulares na região adaxial, proporcionando um aumento em volume do primórdio foliar. Feixes vasculares acessórios podem se desenvolver a partir dessa região.

O desenvolvimento da lâmina foliar ocorre durante o crescimento em comprimento e espessura do primórdio por meio de células das margens que continuam a se dividir, formando a blastozona/meristema marginal. O crescimento marginal varia entre as regiões do primórdio foliar de modo que, nas folhas pecioladas, tal crescimento é reprimido na base, da qual se originará o pecíolo. A partir de divisões de células iniciais marginais, originam-se os tecidos da lamina foliar (epiderme, mesofilo e tecidos vasculares).

Trabalhos recentes, com base em anatomia e biologia molecular, têm descrito etapas em três fases: iniciação, morfogênese primária e expansão e morfogênese secundária. A iniciação foliar a partir dos flancos do meristema apical caulinar é um processo ainda não completamente entendido, porém sabe-se que mutações que o afetam têm um impacto dramático na forma final da folha e que muitos aspectos da morfologia foliar são determinados nessa fase inicial de desenvolvimento. As primeiras mudanças detectadas no MAC são um pico de auxina e um afrouxamento das microfibrilas de celulose da parede celular na região do meristema onde estará posicionado o futuro primórdio. Essa mudança na consistência das microfibrilas se deve a expressão aumentada de genes ligados à produção de expansina, uma proteína que regula a extensibilidade da parede celular, e é necessária para que o primórdio foliar possa emergir do meristema. Outro marcador do local de iniciação são os genes *KNOX*, que se expressam no MAC, porém são reprimidos no local da iniciação do primórdio na fase em que nenhuma mudança morfológica é observada



ainda no MAC. O meristema apical caulinar é uma estrutura radialmente simétrica e a iniciação de órgãos laterais, num padrão filotático, implica na quebra dessa simetria, o que segundo as teorias mecânicas da filotaxia (*mechanical phyllotactic theories*) ocorreria devido a uma diferença de tensão entre a camada L1 e os tecidos subjacentes. De acordo com essas teorias, as forças mecânicas teriam um papel fundamental na definição do local de iniciação do primórdio. Porém, para entender as forças de tensão é necessário entender o papel do turgor, as propriedades da parede celular, a arquitetura do citoesqueleto e o processo de crescimento de uma maneira geral. Entretanto, entender a regulação genética de todos estes processos tem se mostrado uma tarefa bastante complicada. Desta forma, não é um consenso entre pesquisadores que a contribuição das forças mecânicas na determinação da filotaxia seja fundamental. O termo morfogênese primária é usado para descrever os processos que estabelecem a forma básica da folha, relacionada à sua simetria e sub-regiões. Na fase de expansão e morfogênese secundária ocorre aumento na superfície e no volume final da folha, cuja expansão pode ser isométrica ou alométrica, podendo o órgão manter ou alterar a forma estabelecida durante a morfogênese primária.

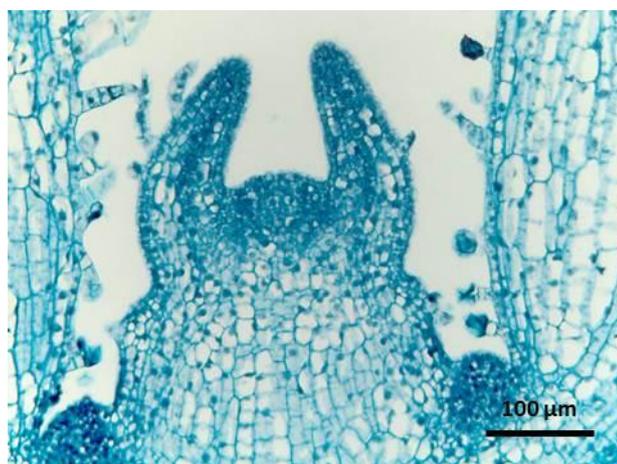


Figura 2: Secção longitudinal do ápice caulinar de *Coleus* sp., mostrando o meristema apical, primórdios foliares e gemas axilares.

Genética molecular do desenvolvimento foliar

Recentemente muitos progressos têm sido feitos no entendimento dos mecanismos moleculares que regulam o desenvolvimento das folhas. Duas famílias de fatores de transcrição são conhecidas por estarem envolvidas no controle do desenvolvimento foliar, os genes *KNOTTED*-like da classe 1 (*KNOXI*) e os genes *LEAFY/FLORICAULA* (*LFY/FLO*).

Os genes *KNOXI* são conhecidos por seu papel importante na manutenção da indeterminação dos tecidos do MAC (sua expressão mantém as células em estado meristemático), porém análises moleculares indicam que os genes *KNOXI* também se expressam durante o desenvolvimento de folhas compostas. Neste tipo de folha a expressão dos genes *KNOXI* faz com que os tecidos se mantenham por mais tempo em estado meristemático, conferindo às folhas uma capacidade maior de crescimento indeterminado. Este tempo mais longo de indeterminação do primórdio é necessário para que as elaborações da lâmina, como folíolos e lobos, possam se desenvolver. Os genes *KNOXI* estão envolvidos no desenvolvimento das folhas compostas de quase todas as linhagens de eudicotiledôneas analisadas até o momento e uma exceção importante nessa tendência de expressão do gene *KNOXI* no primórdio de folhas compostas é observada em *Pisum* (ervilha), onde este gene não se expressa nos primórdios nem em folhas mais velhas. Em *Pisum*, os tecidos são mantidos em estado indiferenciado por mais tempo através da expressão do gene *LFY/FLO* e mutações neste gene fazem com que a folha de ervilha se torne simples.

Existem vários genes que são antagonistas ao *KNOXI* e *LFY/FLO*, pois promovem a diferenciação dos tecidos onde se expressam. Este é o caso dos genes que controlam o estabelecimento da polaridade abaxial-adaxial



nas folhas. As folhas possuem tecidos bastante diferentes nas faces abaxial e adaxial, que desempenham funções distintas. Na face adaxial, comumente, encontra-se uma camada de parênquima paliçádico, que otimiza a fotossíntese e uma camada espessa de cutícula sobre a epiderme. Em geral, na face abaxial encontra-se o parênquima lacunoso e um maior número de estômatos, que regulam as trocas gasosas e a transpiração. Toda essa diversidade de tecidos é gerada a partir da expressão de muitos genes, que além de serem antagonistas ao *KNOXI* e *LFY/FLO* também são antagonistas entre si. Em geral, genes que se expressam na face adaxial reprimem a expressão de genes que se expressam na face abaxial e vice-versa. Mais especificamente a polaridade abaxial-adaxial é estabelecida pela repressão mútua entre os genes *HD-ZIPIII* e o gene *KANADI*. Experimentos mostram que mutantes que não expressam algum dos genes de identidade abaxial ou adaxial desenvolvem folhas que não possuem lamina foliar e são aciculiformes (que lembram gavinhas ou espinhos). Assim, o estabelecimento correto da polaridade abaxial-adaxial é necessário e, pode-se dizer, um pré-requisito para que ocorra a expansão da lâmina foliar. A expansão da lâmina foliar e também a diferenciação dos tecidos diversos que a compõem foram adaptações que maximizaram a fotossíntese ao mesmo tempo em que minimizaram a perda de água para o ambiente, sendo assim importantes inovações para a conquista do ambiente terrestre pelas plantas.

A forma da folha

Embora alguns padrões do desenvolvimento foliar pareçam ser comuns em plantas vasculares, diferenças na ontogênese, em vários aspectos, levam a uma gama de formas finais distintas que tornam a folha o órgão vegetativo mais plástico dentre as traqueófitas, adquirindo grande importância em estudos taxonômicos, ecofisiológicos e na área de genética molecular do desenvolvimento, visto que é um ótimo modelo para investigar a regulação gênica fina devido a toda a variação de formas.

Na maioria das plantas vasculares encontramos associada à axila da folha uma gema de estrutura semelhante ao ápice caulinar, podendo assumir atividade semelhante a este e dar origem a um ramo. Ela pode ser facilmente identificada à vista desarmada ou com o auxílio de uma lupa tornando-se a melhor estrutura capaz de individualizar uma folha morfológicamente. Esta característica, no entanto, surgiu tardiamente dentro da filogenia das traqueófitas e plantas como as licófitas, monilófitas e cicadófitas não apresentam gemas axilares. Consequentemente, também não possuem este tipo de ramificação.

Uma vez individualizada, a forma da folha pode ser melhor entendida subdividindo-a em uma porção conhecida como lâmina (mais apical e geralmente expandida) e uma porção conhecida como base (associada à inserção da folha no caule) morfoanatomicamente distintas. A base da folha comumente é cilíndrica em não monocotiledôneas, sendo chamada de pecíolo (e, mais especificamente, de estipe nas samambaias). Em monocotiledôneas a base costuma ser expandida e envolvente, sendo chamada bainha. Ambas as estruturas podem co-ocorrer na base (uma bainha proximal e pecíolo distal) e não são exclusivas destes grupos (há monocotiledôneas pecioladas e não monocotiledôneas com bainhas). A base ainda pode ser imperceptível morfológicamente e a folha é assim chamada séssil. Projeções laterais da base podem surgir nos primeiros estágios de formação da folha, sendo chamadas de estípulas, que podem assumir diversas funções. Geralmente ocorrem aos pares, mas possuem morfologia bastante variável. Em gramíneas é comum ainda o surgimento de uma projeção adaxial entre a bainha e a lâmina foliar conhecida como lígula, também de morfologia variável. Em algumas plantas, principalmente leguminosas e marantáceas, um intumescimento do pecíolo conhecido como pulvino ocorre e está relacionado ao movimento da lâmina foliar de velocidade variável, desencadeado por higroscopia e/ou potencial elétrico, relacionado à proteção da folha ou à melhor captação de luz.

A lâmina foliar pode assumir diversas dimensões, de milímetros a metros. Varia muito em sua simetria, podendo ser desde perfeitamente simétrica bilateralmente até completamente assimétrica. Algumas folhas são curtas, semelhantes a escamas e relacionadas à proteção de gemas: os catafilos. Outras acumulam uma grande quantidade de água, sendo suculentas. Algumas são cilíndricas, o que muitas vezes está relacionado a um crescimento adaxial muito incipiente durante a ontogênese. Folhas relacionadas a estruturas reprodutivas muitas vezes são diferentes das demais e chamadas de brácteas.

Numa lâmina foliar expandida geralmente o tecido vascular é facilmente perceptível, traçando vários padrões. Numa primeira classificação, podemos dividi-las em grandes grupos: folhas uninérveas (uma única nervura, como geralmente presente nas licófitas), com venação dicotômica (comum nas plantas com sementes, exceto em



angiospermas), com venação reticulada (geralmente com uma nervura central distinta e nervuras laterais que partem desta e se conectam, formando uma trama com terminações livres, comuns em angiospermas não monocotiledôneas) e com venação paralela (as nervuras correm paralelamente da base ao ápice da folha com poucas conexões entre ela e sem terminações livres, condição comum em monocotiledôneas).

A folha como um todo ou suas partes (lâmina, folíolo, estípulas) podem sofrer modificações muito especializadas a determinadas funções. Estas modificações podem ser as gavinhas, geralmente alongadas, cilíndricas e, muitas vezes, com crescimento helicoidal, relacionado à escalada em um suporte (plantas trepadeiras). Podem também ser cilíndricas e alongadas, mas muito lignificadas e geralmente pontudas, relacionadas à proteção e conhecidas como espinhos. Espinhos podem facilmente ser confundidos com acúleos, também pontudos, que são apenas projeções da epiderme e tecido subjacentes, mas não relacionados à modificação de um órgão como um todo e, portanto, sem topologia tão bem definida como os espinhos. Em plantas carnívoras, a lâmina foliar pode ser modificada em armadilhas de invertebrados apressórias, adesivas, suctórias ou em forma de jarro e liberam enzimas proteolíticas necessárias para a carnivoría.

As estruturas foliares podem ser glabras ou possuem um grande número de tricomas (pilosas), de funções diversas. Seus pigmentos podem estar regularmente presentes em toda a lâmina dando-a uma cor geralmente verde, devido à clorofila. No entanto, com a presença de outros pigmentos e disposição diferencial destes, de plastídeos e de tricomas, que influenciam na reflexão luminosa, a folha pode apresentar cores diferentes na face abaxial e adaxial. As diferenças de cores ainda podem formar manchas, listras, pontos ou outras formas em uma mesma face, e a folha é dita variegada.

Ao longo da evolução, em diversos momentos, a lâmina foliar sofreu divisão, individualizando folíolos e dando origem às folhas compostas. Uma folha com dois ou três folíolos é dita bi ou trifoliolada, respectivamente. Se a folha tem mais de três folíolos, eles podem partir todos de um mesmo ponto e a folha é palmada (em forma de palma) ou possuem um eixo cilíndrico alongado (raque) no qual os folíolos se inserem sendo pinada (em forma de pena). Se uma folha pinada tem folíolos terminais pares, é paripinada. Se possuir um único folíolo terminal, é imparipinada. Há ainda folhas com um único folíolo, denominadas unifolioladas, derivadas evolutivamente de uma condição composta, com uma articulação na base do folíolo como testemunha desta redução de número de folíolos. Filogeneticamente as folhas compostas podem ter origem por lobação gradual da lâmina foliar com um aprofundamento tão intenso dos lobos que estes atingiram a nervura principal gerando os folíolos (divisão), outra hipótese é que elas tenham surgido por homeose. Diz-se que ocorreu homeose quando no local de formação de um determinado órgão, outro órgão ou características de outro órgão são expressos. Dessa maneira, as folhas compostas teriam surgido através de uma alteração no padrão de desenvolvimento das folhas simples, e várias estruturas simples (folíolos) teriam se formado onde uma lâmina foliar única deveria ser produzida (multiplicação). Nesse caso, as estruturas simples seriam como folhas simples sendo produzidas por uma estrutura caulinar, assim características caulinares estariam sendo expressas no desenvolvimento das folhas compostas, que por sua vez teriam uma identidade mista, sendo um órgão intermediário entre caule e folha. Assim como a lâmina simples pode portar modificações da base, os folíolos podem ter modificações de segunda ordem associadas a eles, como peciololos, pulvínulos e estípelas (respectivamente pecíolos, pulvinos e estípulas de segunda ordem).

No ápice caulinar, os espaços entre o surgimento de um primórdio e outro subsequente podem vir a se alongar, dando origem, na maturação a um internó, que na planta adulta pode ser identificado como as regiões caulinares que separam os pontos de inserção de folhas: os nós. No entanto, alguns desses espaços podem não vir a se alongar e mais de uma folha pode ocupar o mesmo nó. A esta disposição chamamos de filotaxia e pode ser alterna (uma folha por nó), oposta (duas folhas por nó, sendo geralmente uma folha posicionada a 180° em relação à outra do mesmo nó) ou verticilada (três ou mais folhas por nó). Uma folha alterna pode estar disposta em relação à anterior em um mesmo lado do caule (monóstica), em dois ou três lados do caule (dística ou trística) ou em tantos lados que chegam a formar uma espiral, vista do alto do ramo (espiralada, comumente presente em rosetas). Em folhas opostas, comumente os pares de folhas estão posicionados a 90° em relação ao anterior, vistas do alto do ramo (opostas cruzadas) ou no mesmo plano (opostas dísticas). Uma planta pode apresentar regularmente folhas muito semelhantes ou estas podem variar em forma (junto ao nó e internós associados) e neste caso, a planta apresenta heterofilia. Se a variação é em relação à idade da planta (por exemplo, indivíduos juvenis apresentam uma determinada morfologia e indivíduos adultos, outra) a planta apresenta heteroblastia.



Deve-se atentar ao fato de que condições intermediárias não só existem como são bastante comuns na natureza e as categorizações humanas não conseguem refletir toda a magnitude realística existente. Toda esta diversidade morfológica está relacionada às funções fisiológicas da planta, é determinada por processos evolutivos atuantes ao longo de milhões de anos e foi gerada por alterações nos padrões de ontogênese das primeiras plantas vasculares.

Anatomia foliar

As folhas, de modo geral, compartilham muitas similaridades quanto aos tecidos que as formam, de modo que a diversidade anatômica observada entre os diversos tipos foliares está principalmente relacionada à organização desses tecidos na constituição do órgão. Em linhas gerais, a anatomia foliar consiste em sistema de revestimento composto por epiderme, tecido fundamental da lâmina foliar diferenciado predominantemente em mesófilo parenquimático e sistema vascular distribuído na forma de nervuras. Embora a maior parte das folhas apresente uma lâmina ampla e relativamente fina, algumas podem apresentar características muito diversas, podendo ser espessas e suculentas ou mesmo tubulares, como a cebolinha. Toda gama de formas e modos de vida têm sua correspondência na anatomia, mas ainda que sejam encontradas diversas particularidades entre os tipos foliares observados na natureza, a anatomia foliar reflete as principais atribuições desse órgão: fotossíntese e respiração.

Epiderme: células de paredes anticlinais justapostas sem espaços intercelulares, superfície externa recoberta por cutícula e presença de estômatos configuram as principais características da epiderme foliar (Figura 3A). Como região limítrofe entre os tecidos foliares e o ambiente externo, a epiderme possibilita penetração da luz para a realização da fotossíntese e trocas gasosas com o meio ao mesmo tempo em que protege os tecidos internos de agressões externas, como injúrias e principalmente perda de água por transpiração. Frequentemente é formada por uma única camada de células isodiamétricas, com parede celular primária e delgada que pode ter contorno retilíneo ou sinuoso em maior ou menor grau, dependendo da espécie, da face da folha, ou mesmo das características ambientais às quais está exposta. Entretanto, podem ocorrer folhas com epiderme multisseriada e com paredes lignificadas, neste caso, com a função de refletir ao ambiente o excesso de radiação solar recebida em sua superfície.

Tricomas tectores e glandulares são estruturas frequentes geralmente relacionadas à proteção (Figura 3B). Os tricomas tectores apresentam grande diversidade de formas e funções variadas, como proteção contra o dessecação e radiação solar excessiva; os glandulares apresentam células que produzem e/ou armazenam e secretam substâncias químicas que em muitos casos configuram proteção à herbivoria. Existem, ainda, estruturas com funções mais específicas, como os tricomas escamiformes das bromélias, que têm a função de captar vapor de água disperso no ar.

Estômatos ocorrem mais comumente na face abaxial das folhas (hipostomáticas), como uma forma de minimizar a transpiração excessiva, mas há espécies com folhas anfistomáticas (Figura 3C) e epiestomáticas. Algumas xerófitas apresentam cutícula notavelmente espessa (Figura 3A) e estômatos localizados no interior de invaginações da epiderme (criptas), o que ajuda a minimizar os efeitos da baixa umidade relativa do ar.

Mesófilo: principal tecido fotossintetizante das folhas. É predominantemente parenquimático e apresenta abundância de cloroplastos, podendo ter aspecto homogêneo ou estar organizado em parênquima paliçádico e lacunoso (Figura 3). O parênquima paliçádico é formado por uma ou mais camadas de células prismáticas alongadas e densamente agrupadas, dispostas perpendicularmente à superfície da lâmina (Figura 3A e D). Em muitas mesófitas o parênquima paliçádico localiza-se justaposto ou próximo à epiderme na face adaxial da folha, sendo esta denominada dorsiventral (Figura 3A e D). Em folhas de xerófitas, esse tecido pode ocorrer em ambas as faces da lâmina, o que a caracteriza como isobilateral. O parênquima paliçádico aparenta ser um tecido arranjado em células bem justapostas quando observado em uma secção transversal de folha, mas a partir de cortes paradémicos podemos observar que este apresenta arranjo mais frouxo, e dessa forma, possibilita a passagem de parte da luz recebida pela superfície para os demais tecidos foliares.

O parênquima lacunoso apresenta células de formatos variados e vacúolos grandes e um sistema de amplos espaços intercelulares (Figura 3 A, D e G). Esta disposição favorece a passagem da luz captada pela superfície adaxial e sua distribuição entre o parênquima clorofiliano, mas a principal característica desse tecido é que o arranjo espaçado entre as células amplia a superfície de contato entre estas e o ar presente no interior da folha, o qual está em



continuidade com a atmosfera através, principalmente, dos estômatos. Em crassuláceas é notável a presença de mesofilo homogêneo na região da face adaxial formado por células prismáticas finamente justapostas, sem espaços intercelulares expressivos (Figura 3E). As células deste tipo foliar apresentam vacúolos especialmente grandes, dispondo-se em um arranjo compactado. Neste caso, há otimização no uso do gás carbônico produzido durante a fotossíntese, reduzindo a necessidade de liberação ao meio externo.

Em folhas suculentas é comum a presença de mesofilo disposto em muitas camadas de células, com região central ocupada por parênquima armazenador de água, rodeado por parênquima clorofiliano (Figura 3F); em algumas espécies o parênquima armazenador pode estabelecer contato com a epiderme no ápice da folha, constituindo um verdadeiro túnel translúcido que permite a passagem de luz e sua captação pelo tecido clorofiliano circundante. Esta estrutura é uma característica das chamadas *window leaves* (folhas-janelas) e é de grande importância especialmente para plantas que vivem em ambientes áridos e apresentam a maior parte de seu corpo enterrada no solo, para proteger-se do calor excessivo.

Sistema vascular: ocorre na forma de nervuras interligadas e entremeadas no mesofilo, compostas predominantemente por feixes colaterais de xilema e floema primários. No padrão reticulado característico de folhas que apresentam lâmina ampla (como a maioria das angiospermas não monocotiledôneas) em secção transversal observamos, geralmente, uma nervura central de grande dimensão e nervuras secundárias periféricas relativamente menores (Fig. 3G e H). O padrão de venação paralela é observado em folhas longas (Figura 3I), típicas de monocotiledôneas, nas quais observamos, em secção transversal, feixes vasculares semelhantes entre si dispostos lado a lado por toda a extensão do corte. Em muitos casos há feixes de fibras alternados com os feixes vasculares, dando maior sustentação ao órgão.

Os feixes vasculares foliares apresentam normalmente xilema primário voltado para a face adaxial, como uma continuidade do traço foliar observado no caule. Em folhas pecioladas, os feixes vasculares da lâmina podem confluir em um único feixe em direção ao pecíolo. Muitas vezes ocorrem cordões de esclerênquima associados aos feixes vasculares formando projeções que fazem conexão com a epiderme em ambas as faces da folha (Figura 3J). Os feixes vasculares paralelinérvicos são envolvidos pela bainha do feixe, composta de parênquima (Figura 3I) podendo apresentar esclerênquima. É comum a presença de colênquima ou esclerênquima nas regiões da nervura central em continuidade com o pecíolo e no bordo foliar, com a função de sustentar uma ampla lâmina foliar (Figura 3 G, H e J).

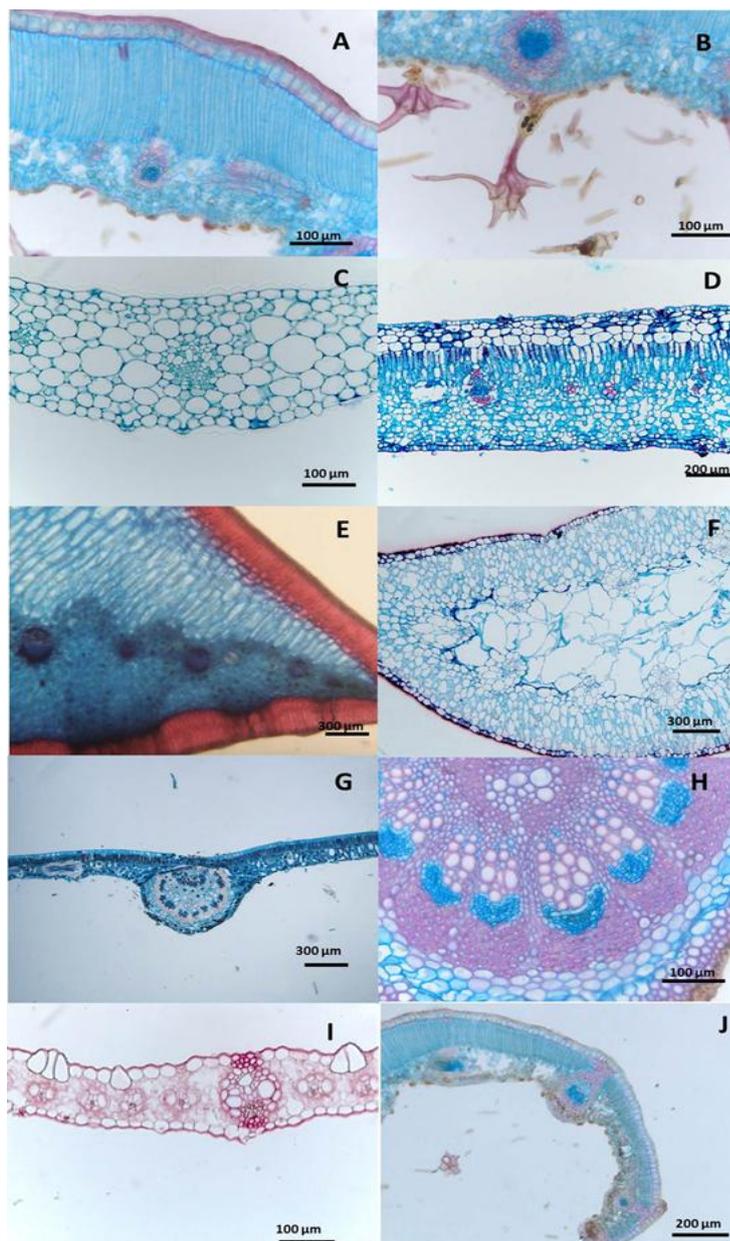


Figura 3: Secções transversais de diferentes tipos foliares. **A e B** – *Capparis yco* (Capparaceae), região do mesofilo; **C** – *Drosera* sp. (Droseraceae), região da nervura central; **D** – *Avicennia* sp. (Acanthaceae), região do mesofilo; **E** – *Encholirium* sp. (Bromeliaceae); **F** – (Xanthorrhoeaceae); **G** – *Guatteria* sp. (Annonaceae); **H** – *C. yco*, nervura central; **I** – *Zea mays*; **J** – *C. yco*, região do bordo foliar.

Estruturas secretoras: além de tricomas glandulares, como mencionado acima, outras estruturas secretoras podem estar presentes na folha, bem como em outras partes do corpo da planta. Alguns exemplos destas são: coléteres (um tipo de tricoma glandular), tricomas urticantes, nectários extraflorais, osmóforos, hidatódios, glândulas de sal, laticíferos, canais resiníferos, idioblastos e glândulas digestivas. Têm como principais funções defesa contra herbivoria, fungos, dessecação e injúrias, algumas estão relacionadas com a polinização, o equilíbrio osmótico da folha e nutrição da planta. Apresentam variação quanto à localização e especialização, pois podem ocupar posição interna ou externa no corpo da planta; podem possuir apenas tecido epidérmico, ou ainda serem vascularizados, além de ocorrerem em forma de ductos ou cavidades. Estas estruturas produzem, armazenam e secretam uma diversidade de substâncias que variam em concentração. Isto é determinante, uma vez que sua função está diretamente relacionada com a concentração das substâncias. Nectários, por exemplo, possuem um exsudato contendo, predominantemente açúcares (sacarose, glicose e frutose – monossacarídeos), entretanto, muitas outras substâncias podem ser encontradas em menor concentração, como oligossacarídeos, mucilagem, aminoácidos, proteínas, ácidos



orgânicos, íons minerais, fosfatos, vitaminas, entre outros. Uma vez sintetizada, a secreção é liberada em compartimentos internos ou para fora do corpo da planta. Óleos essenciais, e resinas ocorrem como acumulações dentro de células, algumas especializadas como os idioblastos.

Referências bibliográficas

- Beck, C.B. (2005) **An Introduction to Plant Structure and Development**. Cambridge University Press, 431p.
- Braybrook, S.A. & Kuhlemeier, C. (2010) How a Plant Builds Leaves. **Plant Cell** v. 22, p. 1006-1018.
- Dale, J.E. (1988) The control of leaf expansion. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** v. 39, p. 267-295.
- Dengler, N.G; Tsukaya, H. (2001) Leaf morphogenesis in dicotyledons: current issues. **International Journal of Plant Science** v. 162(3), p. 459-464.
- Dolan, L. (2009) Body building on land - morphological evolution of land plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 4-8.
- Efroni, I.; Eshed, Y. & Lifschitz, E. (2010) Morphogenesis of Simple and Compound Leaves: A Critical Review. **The Plant Cell** v. 22, p. 1019-1032.
- Esau, K. (1974) **Anatomia das plantas com sementes**. Edgard Blucher, São Paulo.
- Fahn, A. (1974) **Plant Anatomy**. 2. ed. Pergamon Press, Oxford.
- Fahn, A. (1979) **Secretory tissues in plants**. Academic Press.
- Fleming Aj, Mcqueen-Mason S, Mandel T, Kuhlemeier C. (1997) Induction of leaf primordia by the cell wall protein expansin. **Science** v. 276, p. 1415-1418.
- Fleming, A. J. (2002) The mechanism of leaf morphogenesis. **Planta**, v. 216, p. 17-22.
- Foster, A. S. (1936) Leaf differentiation in angiosperms. **The Botanical Review** v. 2(7), p. 349-372.
- Galun, E. (2007) The shoot apical meristem. In: Plant patterning: structural and molecular genetic aspects. London, UK: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. p. 181-221.
- Hagemann, W. & Gleissberg, S. (1996) Organogenetic capacity of leaves: the significance of marginal blastozones in angiosperms. **Plant Systematics and Evolution** v. 199, p. 121-152.
- Ingrouille, M. & Eddie, B. Endless forms? In: Plants: Evolution and Diversity. New York, USA: Cambridge University Press: 2006. p. 97-134.
- Kaufman, P.B., (1959) Development of the shoot of *Oryza sativa* L.: II Leaf histogenesis. **Phytomorphology** v. 9, p. 277-311.
- Kenrick, P. The telome theory. In: Cronk, Q., Bateman, R., and Hawkins, J. (eds.), Developmental Genetics and Plant Evolution. London, UK: Taylor and Francis: 2002. p. 365-387.
- Moore, R. & Langenkamp, M. (1991) Tissue Partitioning During Leaf Development in Ornametally-grown *Frithia pulchra* (Mesembryanthemaceae), a 'Window Plant'. **Annals of Botany** v. 67, p. 279-283.
- Poethig, R.S. (1997) Leaf morphogenesis in flowering plants. **The Plant Cell** v. 9, p. 1077-1087.



Pryer, K.M.; Schneider, H. & Magallón, S. The radiation of vascular plants. In: Cracraft, J. and Donoghue, M.J. (eds), *Assembling the Tree of Life*. New York, USA: Oxford University Press: 2004. p. 138-153.

Sharman, B.C. (1942) Developmental anatomy of the shoot of *Zea mays* L. *Annals of Botany* v. 22. p. 245-282.

Sinha, N.R. (1999) Leaf development in angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology* v. 50. p. 419-446.



Anotações:



Metabolismo Secundário

Janaína Morimoto Meyer

Fernanda Mendes Rezende

Sarah Aparecida Soares

Augusto César de Barros Tomba

Metabólitos secundários são produtos do metabolismo vegetal, não diretamente relacionados com os chamados processos primários para a planta, como fotossíntese, respiração e formação do protoplasma. Daí, esse conjunto de vias biossintéticas ter recebido o nome de metabolismo secundário. Apesar de receberem esse nome, as substâncias oriundas dessas vias são vitais para as plantas, apresentando funções como: defesa contra herbívoros e patógenos, alelopatia, proteção contra raios UV e poluição, atração de polinizadores e dispersores, regulação do metabolismo, sinalização molecular, processos nada secundários para a vida e perpetuação das espécies vegetais.

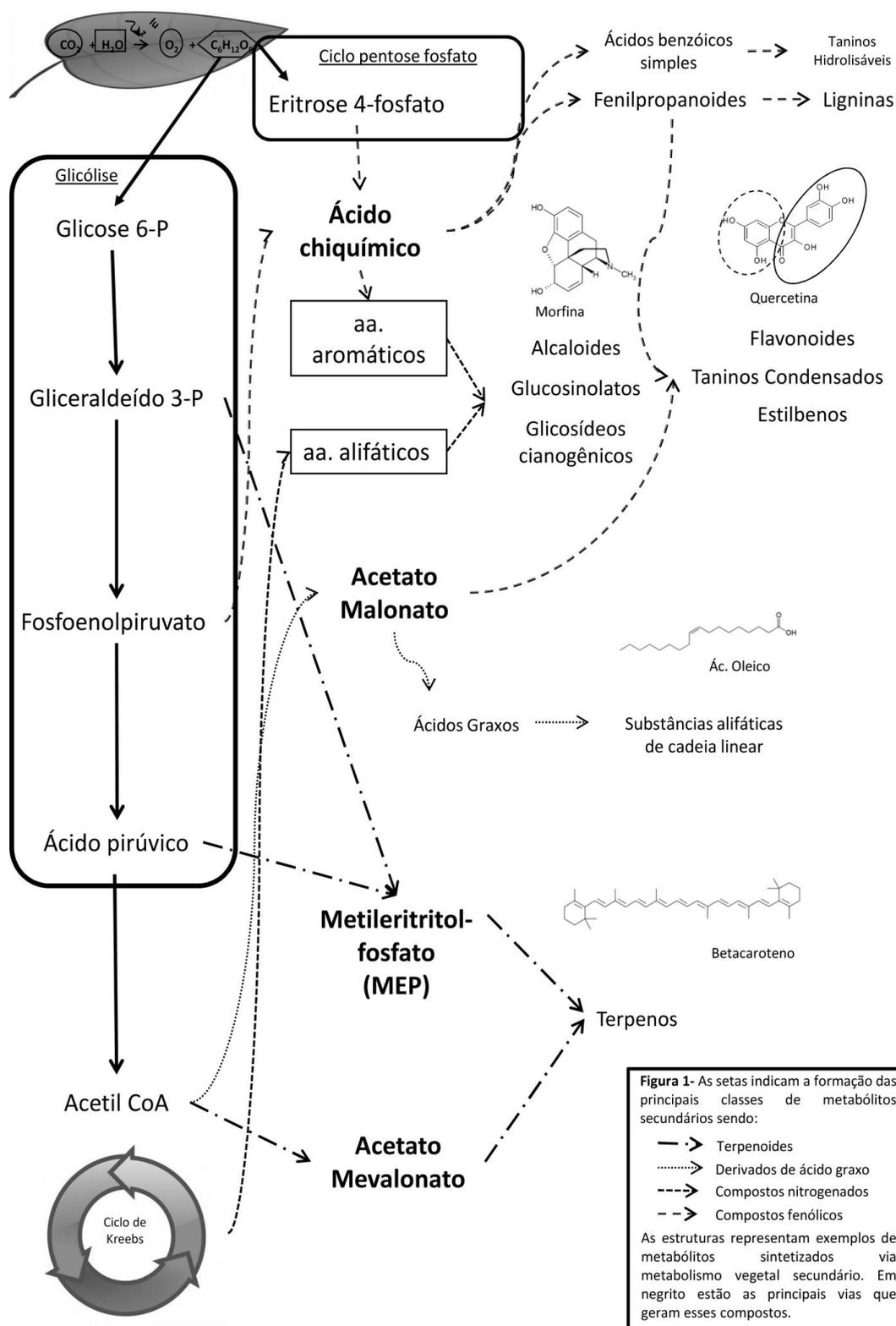
Muitos compostos são encontrados em todos os seres vivos, como é o caso dos carboidratos, proteínas, lipídeos, entre outros. As vias metabólicas que envolvem síntese, degradação e conversão destes são denominadas vias do metabolismo primário, ou metabolismo central. Todas as plantas são capazes de sintetizar uma grande diversidade de metabólitos secundários que não estão presentes de forma ubíqua entre elas, sendo em geral características de um grupo restrito, como uma família ou um gênero, ou até mesmo exclusivos a uma espécie.

Para mediar as interações com o meio ambiente muitas destas substâncias são responsáveis pelos aromas, sabores e cores mais variados e intensos. Os princípios ativos que definem uma planta como sendo medicinal ou tóxica também são metabólitos secundários.

Mas o que são esses princípios ativos das plantas medicinais e tóxicas? São substâncias formadas a partir de produtos da fotossíntese, que apresentam em animais alguma ação sobre seu organismo. Diversas plantas apresentam um uso medicinal milenar. Nos extratos destas plantas a ação conjunta ou isolada de certas substâncias é responsável pela atividade biológica, e essas substâncias seriam os princípios ativos.

Apesar de certas substâncias serem benéficas ao organismo, em altas doses muitas delas podem ser letais. Um exemplo são os glicosídeos cardioativos encontrados em duas espécies de Plantaginaceae do gênero *Digitalis*: *D. lanata* e *D. purpúrea*. Essas substâncias são amplamente empregadas no controle de problemas cardíacos relacionados ao baixo débito cardíaco. Por outro lado, em doses maiores, os glicosídeos cardioativos paralisam o coração na fase de sístole, sobrevivendo dessa maneira a morte.

Os metabólitos secundários são muito diversos (já foram descritos mais de 50000 em angiospermas) sintetizados por quatro principais vias sendo elas: via do ácido chiquímico, acetato malonato, acetato mevalonato e metileritritol-fosfato. Através delas serão formados os quatro grupos principais: derivados de ácidos graxos, compostos fenólicos, terpenos e nitrogenados (Fig. 1). Mais detalhes sobre as rotas biossintéticas e seus papéis na sobrevivência das plantas serão expostos a seguir.



Terpenos

Os terpenos formam o maior grupo de produtos naturais com mais de 35000 substâncias identificadas. É um grupo com grande diversidade estrutural, sendo derivados teóricos do isopreno (Fig.2) e são classificados pelo número de unidades de isopreno que estes contem, veja na Figura 2:

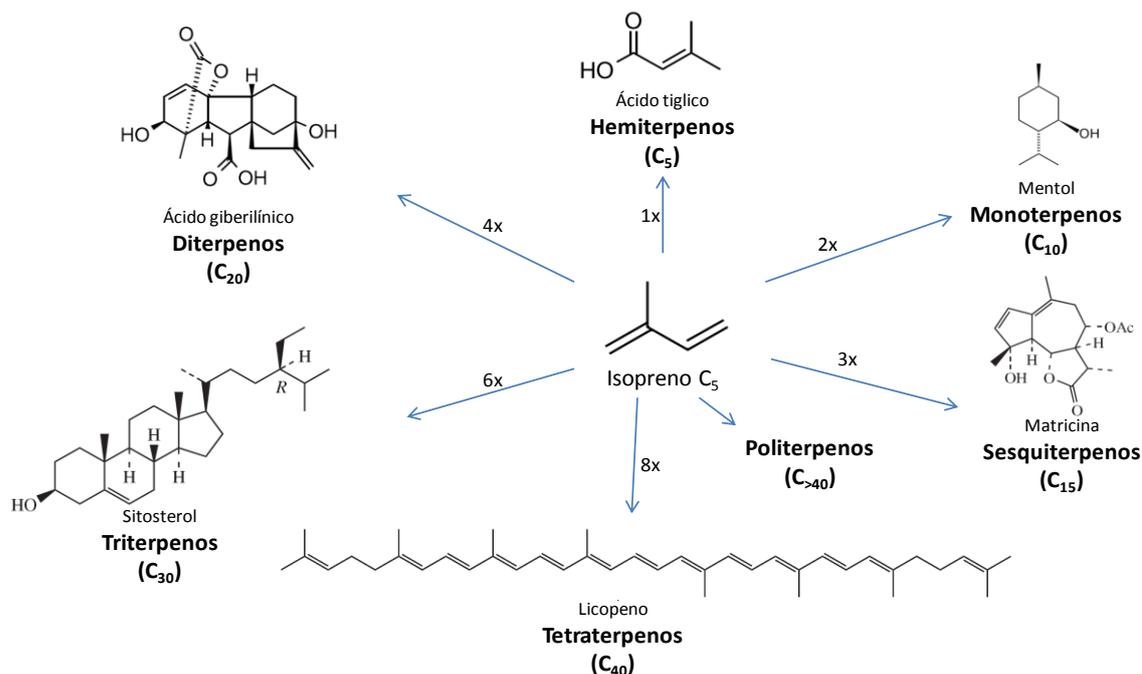


Figura 2 - Isopreno e exemplos de terpenos.

Mono e sesquiterpenoides são substâncias presentes nos óleos voláteis, e conferem a determinadas plantas seu aroma característico (como as Lamiaceae, *Ocimum* sp. por exemplo). Essas substâncias estão associadas à defesa e sinalização molecular nas plantas e muitas têm atividades antimicrobianas.

O fitol, que faz parte da molécula da clorofila, é um dos mais simples e abundantes diterpenos. Giberelinas, grupo de hormônios vegetais envolvidos na regulação de diversos processos como alongamento celular e senescência, também são diterpenos. Atividades anticancerígenas foram relatadas para triterpenos do tipo ursano, lupano e oleanano, substâncias que são encontradas em diversas plantas. Os triterpenos também são frequentemente encontrados na forma de saponinas (do latim: sapo = sabão) que possuem propriedades surfactantes. Limonoides, que são triterpenos modificados, têm reconhecida atividade inseticida. São atribuídas a esses compostos as propriedades do óleo de Neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae). Esteroides são comuns nas plantas também como parte estrutural da membrana celular. São comuns sitosterol, estigmasterol e campesterol. Fitoesteroides são utilizados na dieta humana para diminuir a quantidade de colesterol absorvido.

Carotenoides ou tetraterpenos em geral são pigmentos relacionados à fotoproteção e atração de polinizadores nas plantas; são precursores da vitamina A, cuja deficiência em humanos pode causar problemas de visão.

Dizemos que terpenos são derivados teóricos do isopreno, pois este não está envolvido na síntese dos terpenos. Na verdade, os precursores dos terpenos são: isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP). O IPP e o DMAPP são sintetizados a partir de duas vias: via do ácido mevalônico, que ocorre no citossol, ou via do metileritritol fosfato, que ocorre nos plastídeos, veja Fig. 3.

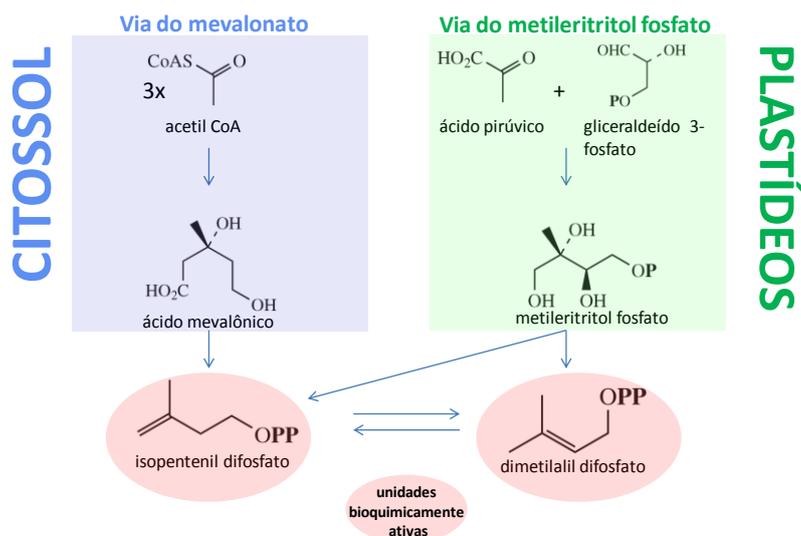


Figura 3 – Representação simplificada das vias metabólicas geradoras dos terpenos.

Derivados de ácidos graxos

O papel destes compostos para a planta é de extrema importância, pois são constituintes de cera cuticular. Juntamente com a cutina e a suberina, as ceras da superfície das plantas constituem o conjunto de substâncias hidrofóbicas que mantêm as superfícies impermeáveis e restringem a perda de água da planta por transpiração.

Essa camada funciona como uma barreira entre o meio interno e externo da planta, revestindo todos os órgãos aéreos. Confere proteção contra os raios UV, entrada de patógenos, poluição e, como já citado, principalmente contra o dessecação. O surgimento desta camada protetora foi um dos importantes fatores para a conquista do ambiente terrestre.

As ceras são misturas complexas de hidrocarbonetos alifáticos de cadeia longa com série homóloga (por exemplo, *n*-alcanos, álcoois, aldeídos, ácidos graxos e ésteres – ver figura 4), que podem apresentar pequenas quantidades de terpenoides. A quantidade de cera nas folhas varia com a espécie e genótipo, idade da folha, e condições ambientais.

O início da síntese desses compostos se dá no plastídio onde ocorre a formação de ácidos graxos C_{16} e C_{18} a partir de unidades de malonil CoA e acetil CoA. Esses ácidos são transportados para o retículo endoplasmático onde sofrem diversas reações de elongação formando ácidos graxos de cadeia longa (C_{20} - C_{40}) precursores dos demais compostos da cera. Reações de descarboxilação levam a formação de alcanos, álcoois secundários e cetonas. Ainda é obscura a síntese dos aldeídos, acredita-se que possam surgir de reações enzimáticas com os alcanos ou diretamente pelos ácidos graxos. Dos ácidos graxos de cadeia longa, também podem ser formados por reações de redução, os álcoois primários e ésteres. Os mecanismos de transporte dessas substâncias ainda não são claros podendo ocorrer por proximidade, vesículas ou transportadores específicos como ABC e proteínas transportadoras de lipídeos.

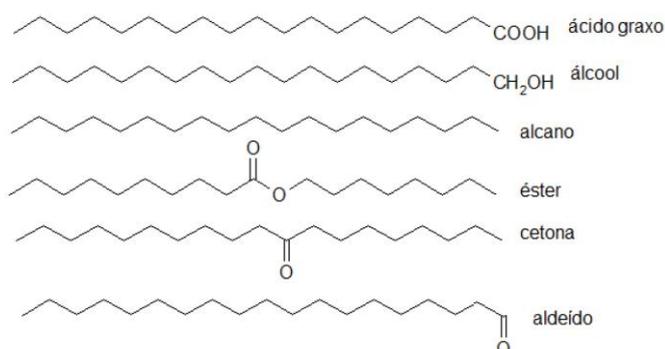


Figura 4- Principais componentes de cera cuticular, derivados de ácido graxo.

Compostos fenólicos



Compostos fenólicos incluem diversas substâncias simples ou com diversos graus de polimerização com pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio foi substituído por um grupo hidroxila. Podem ser encontrados na forma livre (agliconas), ligados a açúcares (glicosídeos), proteínas, terpenos, entre outros. Dentre as substâncias fenólicas temos: ácidos fenólicos, quinonas, fenilpropanoides, cumarinas, flavonoides, taninos e ligninas, veja Fig. 5.

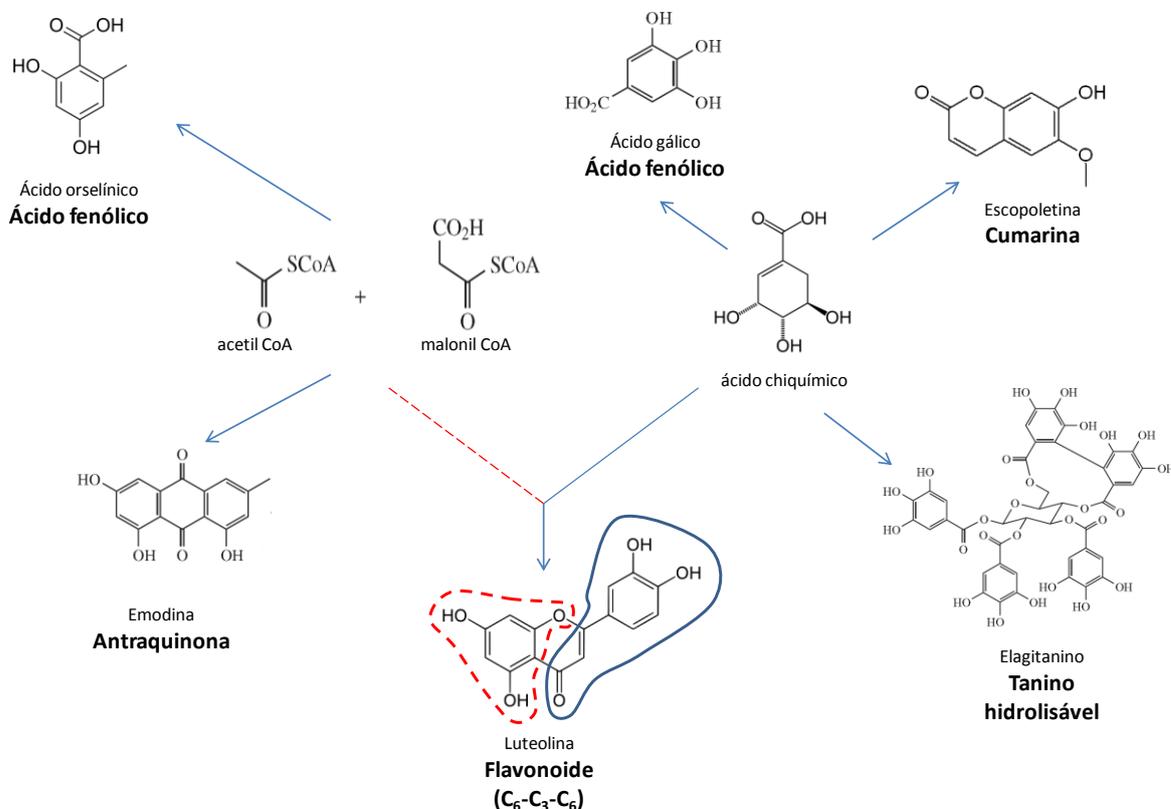


Figura 5- Exemplos de substâncias fenólicas e seus precursores.

As substâncias fenólicas podem ser sintetizadas pela via do ácido chiquímico, pela via do acetato malonato ou ainda pelas duas, como é o caso dos flavonoides que tem biossíntese mista: a via do ácido chiquímico fornece um anel C₆-C₃ enquanto que a via do acetato malonato oferece o outro anel C₆.

Os flavonoides são substâncias que protegem os tecidos vegetais da ação mutagênica dos raios UV e participam da atração de polinizadores e dispersores. Sua estrutura básica é formada por C₆-C₃-C₆ (veja Fig.5), sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal.

Alguns compostos fenólicos não se apresentam em forma livre nos tecidos vegetais. São aqueles presentes sob a forma de polímero: os taninos e as ligninas. Os taninos classificam-se em dois grupos baseados em seu tipo estrutural: taninos hidrolisáveis (restritos a poucas ordens) e taninos condensados. As ligninas são polímeros complexos de grande rigidez e resistência mecânica, e sua hidrólise alcalina libera uma grande variedade de derivados dos ácidos benzóico e cinâmico.

Para os humanos, os flavonoides e substâncias biossinteticamente relacionadas, como os taninos condensados e antocianinas, têm recebido muita atenção devido a suas propriedades terapêuticas.

Compostos nitrogenados

Compostos nitrogenados são defesas químicas anti-herbivoria. As três classes mais importantes dos compostos nitrogenados são: alcaloides; glucosinolatos; glicosídeos cianogênicos. Essas substâncias são formadas a partir de aminoácidos aromáticos e alifáticos.

Alcaloide é o nome dado a um grupo de substâncias bastante heterogêneo, predominantemente sintetizadas por plantas (dos 27.000 alcaloides conhecidos no momento, 21.000 são de origem vegetal), tendo em comum o caráter básico, conferido pela presença de um ou mais átomos de nitrogênio, podendo haver um ou mais heterociclos. Os alcaloides serão classificados de acordo com o anel nitrogenado presente na estrutura (exemplos na tabela 1). São substâncias reconhecidas pelo seu amplo espectro de atividades biológicas, por isso correspondem a princípios ativos comuns em plantas medicinais e tóxicas. É o caso da papoula (*Papaver somniferum*, Papaveraceae), que contém morfina, codeína e papaverina; do café



(*Coffea arabica*, Rubiaceae), que contém cafeína; de *Chondodendron tomentosum* (Menispermaceae), da qual se extrai o curare, potente relaxante muscular utilizado como veneno de flecha por indígenas sul-americanos, que apresenta importantes atividades anestésicas. Outro alcaloide muito conhecido é a nicotina (presente no fumo, *Nicotiana tabacum*, Solanaceae).

Glicosídeos cianogênicos possuem um resíduo de açúcar e um grupamento nitrila. São armazenados em vacúolos e quando a planta é atacada, os glicosídeos cianogênicos são hidrolisados pela enzima que se encontra no citoplasma. Quando hidrolisados produzem cianeto, substância altamente tóxica.

Glucosinolatos são derivados da glicose e de aminoácidos e contém enxofre e nitrogênio na molécula. Ocorrem em quase todas as espécies de Brassicaceae e são responsáveis pelo sabor picante do agrião, rabanete e pelo gosto característico do brócolis, repolho, etc. Ao serem hidrolisados pelas mironases produzem isotiocianato que serve como defesa para a planta.

Há ainda uma classe de compostos nitrogenados que pode atuar como pigmentos: as betalainas. Essas substâncias são formadas a partir da tirosina e restritas a ordem Caryophyllales conferindo colorações avermelhadas a violetas e/ou amareladas a tons de laranja.

Tabela 1- Exemplos de alguns alcaloides com seu respectivo uso, aminoácido precursor e anel com átomo de hidrogênio que confere nome às diferentes classes de alcaloides.

Precursor	Classe	Exemplo	Uso Humano	
Ornitina	Pirrolidínico	Nicotina	Estimulante, sedativo, tranquilizante	
Ornitina	Tropânico	Atropina	Dilatação das pupilas, antiespasmódico	
Ornitina	Pirrolizidínico	Retrorsina	-	
Lisina	Piperidínico	Coniína	Paralisa neurônios motores	
Lisina	Quinolizidínico	Lupinina	Ritmo cardíaco	
Tirosina	Isoquinolínico	Morfina, Codeína	Analgésico	
Triptofano	Indólico	Estricnina, Psicobilina	Distúrbios oculares, alucinógeno	

Referências bibliográficas

Cao Y; Cao R. (1999) Angiogenesis inhibited by drinking tea. **Nature** 398: 381.

Crouteau R; Kutchan TM; Lewis NG.(2000) Natural Products, In: Biochemistry and molecular biology of plants. Eds.: Buchanan B; Gruissen W; Jones R. **American Society of Plant Physiologists**.

Demming-Adams B. (1990) Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. **Biochimica et Biophysica Acta**1020(1): 1-24.

Dewick PM. (2009) Medicinal Natural Products – A biosynthetic approach. 3 ed. **John Wiley and Sons**.

Hartmann T. (2007) From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry** 68: 2831-46.

Heinrich M. (2010) Ethnopharmacology and drug discovery. In: The Comprehensive Natural Products Chemistry Vol 3: 351-381. **Elsevier**.

Kunst, L. and Samuels, A.L. (2009) Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export. **Current Opinion in Plant Biology** 12: 721-727.



Ling WH; Jones PJH.(1995) Dietary phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. **Life Sciences 57(3): 195-206.**

Repke KRH; Megges R; Weiland J; Schön R; (1995) Digitalis research in Berlin-Buch- retrospective and perspective views. **Angewandte Chemie International Edition 34: 282–94.**

Roy A; Saraf S. (2006) Limonoids: Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. **Biological and Pharmaceutical Bulletin 29(2): 191-201.**

Samuels, A.L., Kunst, L., and Jetter, R. (2008) Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. **Annual Review of Plant Biology 59: 683-707**

Simões CMO; Schenkel EP; Gosmann G; de Mello JCP; Mentz LA; Petrovic PR. (2010) Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. **Editora da UFSC.**

Snodderly DM. (1995) Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. **American Journal of Clinical Nutrition 62: 1448-61.**

Tanaka Y; Sasaki N; Ohmiya A. (2008) Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **The Plant Journal, 54: 733-49.**

Tolstikova TG; Sorokina IV; Tolstikov GA; Tolstikov AG; Flekhter AB. (2006) Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry 32(1): 37-49.**

Vermerris W; Nicholson R. (2006) Phenolic Compound Biochemistry.**Springer.**



Anotações:



Microrganismos x Planta: guerra ou parceria?

Carolina Krebs Kleingesinds

Diogo Manzano Galdeano

As plantas estão presentes em diversos ambientes e podem ser classificadas como aquáticas, epífitas, rupícolas, terrícolas, entre outras considerações. Em cada um desses locais, as plantas, como organismos sésseis, estão sujeitas a um conjunto de fatores abióticos e bióticos. Como fatores bióticos, podem ser citados exemplos de interações com outros seres vivos pertencentes a todos os reinos conhecidos e essas podem ser benéficas ou causar prejuízos à planta. Para exemplificar as inúmeras possibilidades existentes de interações entre plantas e outros indivíduos, basta citar os animais que podem ser dispersores de sementes, herbívoros e transmissores de microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e vírus). Além de serem transportados por animais, os microrganismos podem chegar até as plantas por diversas outras maneiras, por exemplo, há estimativas de que em um grama de solo estejam presentes de 6.000 a 50.000 espécies bacterianas.

Ao pensar sobre o fato de existir um elevado número de microrganismos presentes no ambiente em que os vegetais sobrevivem, é comum surgir nas pessoas um anseio por “ajudar” as plantas a eliminar todos esses microrganismos. Porém, será que se exterminássemos todos os microrganismos estaríamos de fato alcançando um benefício?

Retomando a idéia da presença de microrganismos no ambiente em que a planta se encontra, surgem diversas questões: a planta consegue reconhecer a presença dos microrganismos? Estes reconhecem a presença da planta? Se ocorrer esse reconhecimento, deve haver uma troca de sinais entre ambos os organismos, quais sinais seriam esses? A planta pode permitir a presença de alguns microrganismos em seus tecidos e se defender de outros? Como funcionariam os mecanismos de defesa das plantas? Essas questões serão abordadas no presente capítulo, assim como exemplos sobre a importância do conhecimento sobre as interações entre plantas e microrganismos para a agricultura mundial.

Microrganismos presentes nos vegetais

As pesquisas sobre a presença de microrganismos nos vegetais começaram a se tornar relevantes com as evidências de que fungos e bactérias poderiam ser agentes causadores de doenças. O pesquisador Anton de Bary (1831-1888) teve grande contribuição para esses estudos e por isso é considerado o pai da fitopatologia, ciência que estuda as doenças de plantas. De Bary demonstrou que os fungos eram as causas das doenças e não substâncias liberadas pelas plantas como muitos acreditavam.

Porém, outra questão que estava sendo estudada era a presença de nódulos nas raízes de leguminosas e sua relação com a conversão do nitrogênio atmosférico em amônia. Uma maior compreensão sobre este fato veio em 1888 quando Martinus Beijerinck conseguiu isolarmicrorganismos do interior de nódulos presentes em raízes de diferentes espécies de leguminosas. As pesquisas sobre a importância dessa relação continuam sendo desempenhadas até os dias presentes, com novas descobertas sendo alcançadas. Atualmente, sabe-se que os microrganismos presentes nesses nódulos são bactérias fixadoras de nitrogênio (também denominadas por diazotróficas). Bactérias diazotróficas encontradas em nódulos são genericamente chamadas por rizóbios, pertencentes ao grupo α ou β proteobacteria e estabelecem simbiose com membros da família *Leguminosae* e também com um único gênero de não leguminosa denominado *Parasponia*. As interações entre bactérias e plantas podem levar à formação do nódulo que se desenvolve com maior frequência na raiz quando comparada à parte aérea do vegetal. As bactérias no interior dos nódulos fixam o nitrogênio atmosférico disponibilizando amônia para seu hospedeiro e em troca permanecem em um ambiente protegido recebendo produtos fotossintéticos.

Estudos foram feitos com bactérias que habitam a região do solo onde a raiz exerce influência (rizosfera) e se verificou que muitas promoviam o crescimento de certas espécies vegetais. Essas bactérias podem produzir e liberaraminoácidos e fitormônios, fixar e disponibilizar nitrogênio, ser potenciais agentes de biocontrole, aumentar a resistência a estresses hídricos e osmóticos e ainda proporcionar aos vegetais outrosbenefícios.

Entretanto, existem bactérias que colonizam espaços intercelulares ou o interior de vasos condutores estabelecendo relações de parasitismo com as plantas ao adentrar no tecido do hospedeiro, resultando em benefício do microrganismo em detrimento da planta. Apesar da diversidade bacteriana existente nos ambientes terrestres e aquáticos, foram poucas, proporcionalmente, as espécies de bactérias que ao longo da evolução desenvolveram mecanismos para colonizar tecidos vegetais. Logo, podem ser consideradas exceções as bactérias capazes de causar doenças em plantas superiores. Os mecanismos de patogenicidade através dos quais as bactérias induzem doenças e os mecanismos de defesa do hospedeiro em resposta ao ataque vêm sendo exaustivamente estudados ao longo do tempo, visando uma melhor compreensão da interação entre o patógeno e a planta. Dentre as bactérias fitopatogênicas, as principais são pertencentes



aos gêneros *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Ralstonia*, *Streptomyces*, *Xanthomonas*, *Xylella* e *Corineforme*.

Da mesma maneira que o final do século XIX teve grande importância para os estudos da relação entre bactérias e leguminosas noduladas, foi nesse período que ocorreram as primeiras descrições e possíveis explicações sobre o funcionamento das associações simbióticas micorrízicas (associações entre fungos e raízes de plantas). Atualmente são conhecidos diferentes tipos de associações micorrízicas sendo o tipo mais comum representado pelas micorrizas arbusculares. Inclusive, há levantamentos que indicam que 80% das famílias de plantas são compostas por espécies que formam micorrizas arbusculares. Estas últimas ocorrem em todas as latitudes e na quase totalidade dos ecossistemas terrestres, por esse motivo há grande interesse no estudo desse microrganismo. Esses fungos pertencem à divisão Glomeromycota e precisam necessariamente se associar a uma raiz vegetal para completar o seu ciclo de vida. Os fungos disponibilizam para as plantas nutrientes como o potássio (que possui baixa mobilidade no solo) e o vegetal fornece carbono por meio de açúcares transferidos para o fungo que posteriormente vão utilizar esse elemento para a constituição do micélio (conjunto de hifas), aumentando assim a possibilidade de exploração do substrato. Além da nutrição, os fungos pertencentes a essas associações podem proporcionar outros benefícios aos vegetais como aumento à resistência a patógenos e incremento na tolerância à deficiência hídrica.

Porém, os fungos também estão entre os mais importantes agentes causais de doenças em plantas. Por exemplo, a epidemia de requeima da batata na Irlanda, causada por *Phytophthora infestans*, em 1845 e 1846, destruiu 80% da produção de batata no país e em consequência a este fato ocasionou a morte de milhares de pessoas. Já entre 1869 e 1889, no Ceilão (hoje Sri Lanka), as plantações de café foram atingidas pelo fungo *Hemileia vastatrix* ocasionando queda na produção de 50 mil toneladas para quase zero e por conta deste fato, os ingleses que importavam e consumiam o café do Ceilão começaram a ser bebedores de chá até os dias atuais.

Doenças importantes ocasionadas por fungos no Brasil também podem ser citadas como, por exemplo, a vassoura de bruxa do cacauero na Bahia (causada por *Crinipellis pernicioso*) que de 1989 a 1996 reduziu a produção do cacau de 104 mil toneladas para 31 mil e até hoje a epidemia é severa no estado e, além das consequências econômicas, ocasionou sérios problemas sociais, como o êxodo rural e desemprego, e ecológicos, como a destruição da Mata Atlântica. Outro exemplo, em maio de 2001, dois meses após terem sido constatados no Paraguai, sintomas da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) foram observados em campos de cultivo do Paraná e rapidamente se espalhou para as demais regiões produtoras de soja do Brasil levando o país a ser o segundo consumidor de fungicidas no mundo em 2007 devido ao aumento no número de aplicações para o controle da doença.

Podem-se citar também outros agentes causais de doenças em plantas, por exemplo, vírus, viróides, fitoplasmas e espiroplasmas. Um exemplo importante de doença viral ocorreu na década de 20 quando o vírus do mosaico da cana-de-açúcar (*Sugarcane mosaic virus*) foi introduzido no Brasil, provavelmente através de toletes contaminados trazidos da Argentina e naquela época a totalidade dos canaviais brasileiros era composta de variedades de *Saccharum officinarum* que apesar da excepcional riqueza em açúcar era altamente suscetível ao mosaico, e assim o colapso que seguiu pode ser avaliado pela redução da produção que ocorreu entre os anos de 1922 e 1925: 1250 mil sacos de açúcar contra 220 mil, seis milhões de litros de álcool contra dois milhões e até hoje grandes culturas sofrem com agentes de natureza viral como plantas cítricas e cana-de-açúcar.

Além das relações citadas acima existem outras interações benéficas entre plantas e microrganismos que começaram a ser mais pesquisadas muitos anos depois. Principalmente a partir de 1980, houve um grande incremento no número de pesquisas com microrganismos que foram denominados endofíticos. Estes foram definidos por habitar, em pelo menos parte do seu ciclo de vida, os tecidos internos dos vegetais sem causar danos aparentes ao seu hospedeiro. Acredita-se que os microrganismos endofíticos possam promover ainda mais benefícios à planta do que aqueles que estão na região externa. Além de bactérias, também se desenvolveu grande interesse por estudo de fungos endofíticos, por exemplo, espécies do gênero *Trichoderma*, pois foi constatado de que sua presença estava associada à redução de ataque de patógenos e promoção de crescimento em plantas de diversas culturas.

Interação

A relação entre um microrganismo e uma planta pode ou não ser estabelecida. Isso vai depender de um reconhecimento entre ambos que ocorre por meio de uma troca de sinais. Alguns destes são bem compreendidos, porém ainda há muito a ser estudado.

Um microrganismo pode ser benéfico, neutro ou patogênico para uma planta e esta pode ou não ser hospedeira para o microrganismo (Figura 1). Por exemplo, um determinado microrganismo pode ser promotor de crescimento apenas para uma certa espécie vegetal. Se ele entrar em contato com essa planta hospedeira, ele poderá colonizá-la. Contudo, se ele encontrar uma outra espécie vegetal, ele provavelmente não será capaz de colonizá-la (Figura 2).



Moléculas constituintes ou liberadas por ambos os organismos são fundamentais para o processo de sinalização. No caso da simbiose entre leguminosas e rizóbios, todas as etapas desde as trocas de sinais, que resultam na infecção e formação dos nódulos, envolvem genes específicos tanto da planta quanto do microrganismo. Os genes da planta característicos para nodulação são denominados por nodulinos (*Nod*) e os genes do microrganismo com o mesmo papel são chamados por genes de nodulação (*nod*). Existem diferentes classes de genes *nod* sendo que algumas são encontradas em todas as linhagens de rizóbios enquanto outras diferem entre as espécies de rizóbios e determinam o número de hospedeiros com os quais poderão interagir simbioticamente. Essa interação tem início com os rizóbios sendo atraídos por substâncias químicas secretadas pelas raízes como flavonóides e betaínas. Esses compostos levam à transcrição de genes *nod* e como consequência há produção de proteínas de nodulação, sendo que muitas estão envolvidas na produção de fatores Nod. Esses sinais ativam receptores presentes na epiderme da planta. A ativação desses receptores facilita a adesão dos rizóbios às paredes celulares do pêlo radicular que são induzidos a se enrolarem. Ocorre então a formação de um “tubo” de infecção que tem início no pêlo radicular e cresce em direção ao córtex da raiz transportando as bactérias para o primórdio nodular (recém formado como consequência de divisão das células do córtex da raiz). A posição desse primórdio nodular é controlada por diferentes compostos sinalizadores como os fitormônios. Esses últimos também sinalizam outros passos na formação do nódulo. Contudo, ainda são necessários mais estudos para melhor compreensão desse assunto. Tem sido verificado que o papel dos fitormônios na nodulação pode variar em diferentes espécies de leguminosas. Ainda assim, busca-se um papel geral para cada fitormônio. As pesquisas que foram realizadas até o presente indicam o etileno como um importante regulador, logo no início do processo: conjectura-se que durante a infecção pelos rizóbios, a planta diminua no local da infecção a produção de etileno em resposta aos fatores Nod e isso leve a parada do crescimento do pêlo da raiz e início do crescimento do “tubo” de infecção. As citocininas parecem ter um papel em coordenar o processo de infecção e a divisão do córtex celular. Outros sinais têm sido pesquisados para melhor compreensão do estabelecimento dessa simbiose. Com o conhecimento até o presente, afirma-se que nenhum dos eventos de nodulação pode ocorrer sem a sinalização pelos fatores Nod e que uma determinada leguminosa responde a fatores Nod específicos (é por isso que rizóbios particulares são capazes de levar à formação de nódulos funcionais em apenas certas espécies de leguminosas).

Diferente dessa relação com grande especificidade entre rizóbios e leguminosas e também de outras associações micorrízicas, nas micorrizas arbusculares, em geral, verifica-se menor especificidade entre os fungos micorrízicos arbusculares e as espécies vegetais. Para o estudo da sinalização entre esses dois parceiros, primeiro, surgiu a questão se, assim como ocorre entre bactérias e plantas, os flavonóides não seriam também importantes para comunicação entre os fungos micorrízicos arbusculares e as plantas. Os resultados têm indicado que essas substâncias são estímulos para o crescimento desses fungos e assim eles poderiam encontrar mais facilmente as raízes de seu hospedeiro. Outras substâncias têm sido estudadas e a presença de estrigolactonas nos exudatos das raízes foi relacionada com a ramificação das hifas (processo freqüentemente observado em presença de raízes). Para dar continuidade ao processo de formação da associação, outros sinais são importantes, porém nem todos são conhecidos até o presente. O conjunto de sinais seria reconhecido por receptores protéicos presentes na membrana do fungo e estes ativariam outros componentes. Acredita-se que um desses compostos seja o Gin1 que está presente na membrana plasmática do fungo e é covalentemente modificado na presença dos sinais da planta. Então, ele interagiria com outras proteínas de membrana para transmitir o sinal para o núcleo onde ocorreria a transcrição de alguns genes que promoveriam o estado simbiótico do fungo. Como pode ser notado, existem muitas lacunas ainda no entendimento das vias de sinalização entre as plantas e os fungos micorrízicos arbusculares.

Pouco se sabe também sobre a sinalização entre rizobactérias ou bactérias endofíticas ou ainda fungos endofíticos e seus hospedeiros. Dentre os conhecimentos existentes, sabe-se que os flavonóides também têm papel fundamental para a sinalização entre as plantas e os microrganismos supracitados. Além disso, verificou-se que bactérias promotoras de crescimento são atraídas com intensidade distinta dependendo dos compostos presentes nos exudatos de raízes. Os estudos realizados indicam que as respostas de quimiotaxia a diferentes moléculas são específicas para cada linhagem bacteriana. Por exemplo, dentro de um mesmo gênero bacteriano como o *Azospirillum*, existem diferentes linhagens bacterianas. Elas respondem diferentemente à presença de aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos aromáticos. Sendo assim, dentro de apenas um gênero já existem várias possibilidades, estas aumentam muito ao se pensar que existem vários gêneros de microrganismos e por tanto as relações entre plantas e esses microrganismos devem ser específicas.

Após os microrganismos serem atraídos pela planta eles precisam conseguir colonizá-la e para isso também há trocas de sinais entre os parceiros. Acredita-se que moléculas como os fitormônios produzidos e liberados pelas bactérias são essenciais para a comunicação e estabelecimento dos microrganismos nos tecidos das plantas. Uma vez tendo colonizado a planta, o microrganismo pode ocasionar alteração no balanço hormonal da planta e beneficiar a planta com disponibilização de nutrientes.

Em cada sistema de parceria de microrganismo e planta alguns sinais podem ser mais ou menos importantes e devido ao elevado número de parcerias, há ainda muito a ser estudado.

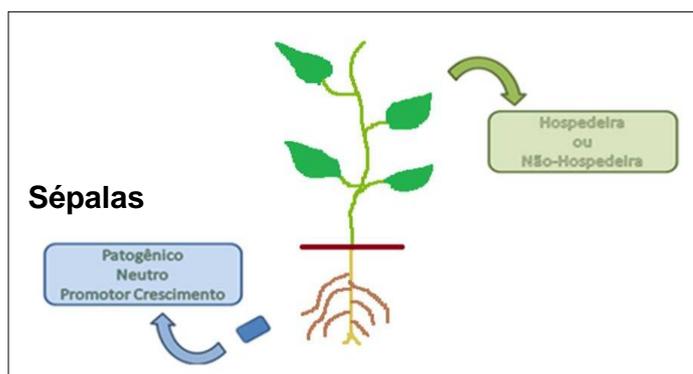


Figura 1: Possíveis identidades de um microrganismo (azul) e de uma planta (verde) para o estabelecimento da relação microrganismo x planta.

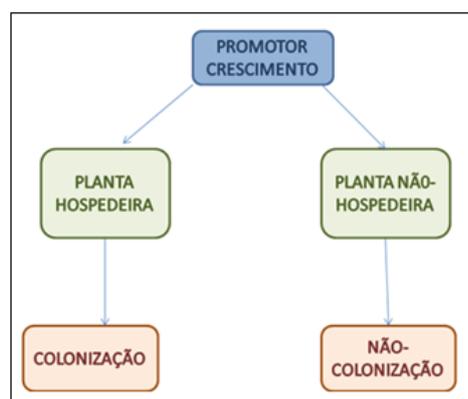


Figura 2: Esquema de um microrganismo promotor de crescimento frente a duas situações: ao encontrar uma planta hospedeira, com possibilidade de colonização e ao encontrar uma planta não-hospedeira, não havendo colonização.

Mecanismos de defesa da planta

Cada interação hospedeiro-patógeno pode ser encarada como uma luta entre dois organismos pela sobrevivência. De um lado o patógeno lança mão de armas químicas para atacar o hospedeiro em potencial, por exemplo, enzimas, fitotoxinas, hormônios e polissacarídeos extracelulares. Além disso, patógenos também possuem genes, cujos produtos são importantes no processo de patogenicidade e no impedimento da ativação do sistema de defesa das plantas. Já as plantas procuram se defender dos patógenos por meio de mecanismos estruturais e/ou bioquímicos.

A resistência de um hospedeiro pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos. A resistência é caracterizada pela sua natureza dinâmica e coordenada, onde a efetividade depende da expressão dos seus mecanismos em uma sequência lógica, após o contato do patógeno em potencial com o hospedeiro. Além disso, mostra-se como um sistema multipotente, onde o nível de resistência resulta da somatória das contribuições individuais de diferentes mecanismos de resistência. Estes são subdivididos em duas categorias: pré-formados (passivos, constitutivos) e pós-formados (ativos, induzíveis). Os primeiros incluem aqueles já presentes nas plantas antes do contato com os patógenos e os pós-formados mostram-se ausentes ou presentes em baixos níveis antes da infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta à presença dos patógenos. Nestas duas categorias pode ocorrer outra subdivisão em estruturais e bioquímicos. Os fatores estruturais da planta atuam como barreiras físicas, impedindo a entrada do patógeno e a colonização dos tecidos, enquanto que as reações bioquímicas que ocorrem nas células do hospedeiro produzem substâncias que são tóxicas ao patógeno ou criam condições adversas para o crescimento e sobrevivência do mesmo no interior da planta.

A superfície das plantas constitui-se na primeira linha de defesa contra fitopatógenos em potencial, os quais devem ultrapassá-la para causar infecção. Dentre as estruturas existentes nas plantas antes da chegada dos fitopatógenos, e que podem contribuir para a resistência, pode-se citar a cutícula, os tricomas, os estômatos (tamanho e formato), bem como a presença de fibras e de vasos de condutores. Embora as estruturas superficiais ou internas pré-formadas possam contribuir para a resistência dos hospedeiros, a maioria dos patógenos consegue ter acesso ao interior das plantas. Nesse sentido, os hospedeiros continuam a se defender dos invasores através da formação de novas barreiras estruturais, as quais interferem com o progresso dos fitopatógenos nos tecidos. Esses fatores de resistência podem ser agrupados em estruturas de defesa celular (agregação citoplasmática, halos, papilas, lignificação e acúmulo de glicoproteínas ricas em



hidroxiprolina na parede celular), as quais geralmente envolvem células individuais sob ataque do patógeno, e estruturas de defesa histológica (camadas de abscisão, camadas de cortiça e tiloses nos vasos do xilema), que envolvem tecidos das plantas normalmente à distância do sítio de penetração do patógeno.

Da mesma forma que os fatores estruturais, os fatores bioquímicos de resistência podem ser subdivididos em pré-formados ou pós-formados, em função da chegada do patógeno nos tecidos da planta. Inúmeras substâncias pré-formadas, também conhecidas como fitoantecipinas, exibem atividade antimicrobiana e estão envolvidas na resistência das plantas contra fitopatógenos. Dentre as substâncias pré-formadas, a natureza química das mesmas pode ser representada por fenóis, alcalóides, lactonas, terpenóides e, recentemente, até mesmo, por proteínas e peptídeos. Já as substâncias pós-formadas são as espécies reativas de oxigênio, as fitoalexinas e as proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP), por exemplo, β -1,3 glucanase, quitinase e peroxidase.

Como visto até aqui, as plantas possuem diferentes mecanismos estruturais e bioquímicos que podem contribuir para a resistência das mesmas contra fitopatógenos. A possibilidade da ativação de genes responsáveis por esses mecanismos de resistência, sob condições especiais, tornando as plantas mais resistentes aos patógenos, abriu as portas para estudos envolvendo o fenômeno da indução de resistência em plantas. A resistência induzida é também conhecida como indução de proteção ou imunidade adquirida e envolve a ativação de mecanismos latentes de resistência em uma planta através de tratamentos com agentes externos, que podem ser bióticos (por exemplo, microrganismos viáveis ou inativados) ou abióticos (por exemplo, metais pesados ou acibenzolar-S-metil), sem alteração do genoma da mesma. A proteção induzida é dependente do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (tratamento indutor) e a subsequente inoculação do patógeno (tratamento desafiador). Essa dependência indica que mudanças específicas no metabolismo da planta, envolvendo a síntese e/ou acúmulo de substâncias, são importantes no fenômeno de resistência induzida que pode se manifestar local ou sistemicamente, à distância do ponto da aplicação do indutor e penetração do patógeno.

Reconhecimento, sinalização e ativação dos sistemas de defesa

Um alto grau de especificidade existe nas interações hospedeiro-patógeno. Apesar do grande número de patógenos em potencial no ambiente, somente umas poucas espécies vegetais ou variedades tornam-se infectadas. O fenômeno de especificidade não é restrito somente às interações planta-patógeno, mas também uma característica das interações animal-patógeno e planta-planta, sendo dependente das partes em interação. A especificidade nas interações planta-patógeno pode ser distinguida de duas maneiras: uma, no nível de espécie (especificidade espécie-espécie) e, outra, em nível de variedade (especificidade raça-variedade). A resistência em nível de espécie é comumente referida como resistência de não-hospedeiro e a resistência em nível de variedade é frequentemente referida como resistência de hospedeiro (Figura 3).

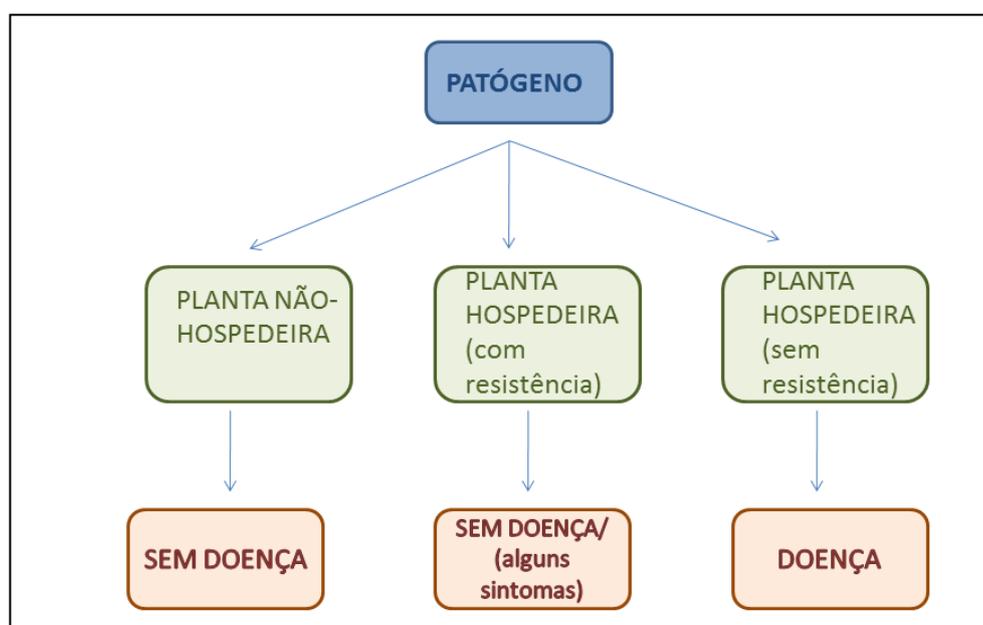


Figura 3: Esquema da representação do patógeno encontrando planta não-hospedeira, planta hospedeira (com resistência e planta hospedeira (sem resistência).



Independentemente das especulações sobre os mecanismos envolvidos na especificidade, as reações diferenciais de hospedeiros, não-hospedeiros e variedades implica na existência de um reconhecimento específico entre plantas e patógeno. O fenômeno de reconhecimento é definido como o “evento inicial na comunicação célula a célula, o qual evoca uma resposta bioquímica, fisiológica ou morfológica definida”. O reconhecimento pode ser visto como uma interação do tipo sim ou não, a qual, subseqüentemente, permite ou impede a evolução de uma cadeia de respostas para o desenvolvimento ou restrição do crescimento do patógeno.

A ativação das respostas de defesa por parte da planta se inicia pelo reconhecimento de padrões moleculares associados ao microrganismo (PAMPs – *pathogen-associated molecular patterns* e MAMPs – *microorganism-associated molecular patterns*), mediado pela interação entre genes de resistência da planta (*R*) e de avirulência do patógeno (*avr*) ou pela ligação de elicitores não-específicos (fatores abióticos, produtos do patógeno, frações da parede celular da planta ou do próprio microrganismo) a possíveis receptores da planta. Os mecanismos de defesa desencadeados podem incluir a resposta de hipersensibilidade (morte repentina de um número limitado de células do hospedeiro circundando o sítio de infecção), a produção de espécies reativas de oxigênio, a ativação de genes de defesa, a síntese de fitoalexinas e compostos aptos a promover mudanças estruturais na parede celular. Além disso, sinais, podem ser translocados para partes distantes do sítio onde o reconhecimento ocorreu, aumentando os níveis de resistência.

Assim, para que os mecanismos de defesa sejam ativados, existe a necessidade da percepção molecular de sinais por parte da planta. Provavelmente, moléculas receptoras poderiam estar na membrana plasmática para estímulos extracelulares e no citoplasma e/ou núcleo para sinais que ocorrem intracelularmente, como no caso de vírus e bactérias.

Diferentes dos produtos de genes *avr*, compostos presentes na parede celular e outros secretados pelo patógeno constituem-se em elicitores não-específicos, para os quais existem os respectivos receptores. As plantas apresentam um sistema capaz de perceber sinais químicos e detectar a presença de invasores, conseqüentemente acionando o seu sistema de defesa. Como exemplos de elicitores não-específicos tem-se as β -glucanas, quitina, etileno ácidos salicílico, jasmonatos, elicitininas e harpinas.

Depois de efetuada a percepção do sinal, mediada pelos receptores celulares, tem lugar a transdução do sinal gerado pela interação elicitador-receptor, a qual consiste na amplificação desse sinal para o sítio de ação no interior da célula. Essa amplificação pode ser direta ou indireta, por exemplo, via mensageiros secundários, fosforilação de proteínas e ativação de proteínas G. A fosforilação de proteínas se apresenta como um mecanismo-chave para transdução de sinais em procariotos e eucariotos. Nesse processo, quinases de proteínas efetuam a catálise de substratos como histidina, serina, treonina e tirosina. Dentre essas enzimas, as proteínas denominadas de quinases de proteínas ativadas por mitógenos (MAP-quinases) mostram-se de especial interesse. Diversos compostos foram identificados como mediadores no processo de sinalização para respostas das plantas a diferentes patógenos ou fatores abióticos. Dentre eles, pode-se citar o ácido salicílico, o ácido jasmônico, etileno e o óxido nítrico. Acredita-se que microrganismos promotores de crescimento ativariam determinadas vias de sinalização na planta enquanto microrganismos patogênicos ativariam outras. Finalmente, corre a transdução do sinal, onde ocorrem as respostas celulares em função da ativação de genes envolvidos na síntese de proteínas-RPde enzimas de rotas metabólicas de fitoalexinas e de mecanismos de defesa estruturais (Figura 4).

Importância do conhecimento para a agricultura

Os conhecimentos que vão sendo adquiridos a respeito da interação entre microrganismos e plantas são muito úteis para a agricultura. Se, por um lado, é importante o desenvolvimento de métodos eficazes para combate aos microrganismos patogênicos, por outro lado, microrganismos benéficos podem ser introduzidos nas culturas agrícolas para promover o crescimento dos vegetais. Isso é importante porque há necessidade de se aproveitar ao máximo os espaços agricultáveis já existentes para diminuir a necessidade de desmatamento ou mesmo remanejamento de novas áreas. Além disso, a aplicação de microrganismos promotores de crescimento vegetal pode auxiliar na redução do uso de fertilizantes industrializados que causam prejuízos ambientais.

Empresas têm realizado parcerias com universidades para desenvolvimento de inoculantes comerciais. Por exemplo, depois de anos de pesquisas, atualmente, pode-se comprar produtos contendo microrganismos fixadores de nitrogênio para serem aplicados em culturas de soja e também em não leguminosas como milho, trigo e cana-de-açúcar. Para as diferentes culturas, existem inoculantes distintos sendo vendidos. Apesar de esses produtos terem como principal finalidade o incremento na quantidade de nitrogênio disponível para as plantas, vale lembrar que os microrganismos podem promover outros benefícios aos vegetais como liberação de fitormônios e biocontrole. Esses inoculantes com bactérias diazotróficas são comumente aplicados no Brasil, porém, existem outras tecnologias que já são bastante utilizadas em outros países e estão começando a ser empregadas em nosso país, por exemplo, o uso de inoculantes com fungos micorrízicos arbusculares. Essa tecnologia pode trazer benefícios como aumento da absorção de água (diminuindo custos com irrigação) e de nutrientes.



Microrganismos também são empregados freqüentemente na agricultura com o objetivo de controle biológico de nematóides. Para esse fim, é bastante comum o uso de bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pausteria*, e também, fungos do gênero *Trichoderma* e este também pode promover o crescimento de diversas espécies de plantas.

Além disso, a agricultura procura obter plantas que sejam resistentes ou que tenham certo nível de tolerância contra ataques de microrganismos patogênicos além de outras características relevantes para a agricultura. Para isso empresas, universidades e institutos de pesquisa buscam selecionar e incorporar nas plantas os genes relacionados a estas características por meio do melhoramento vegetal clássico (cruzamentos entre plantas) ou pela engenharia genética (transgênicos).

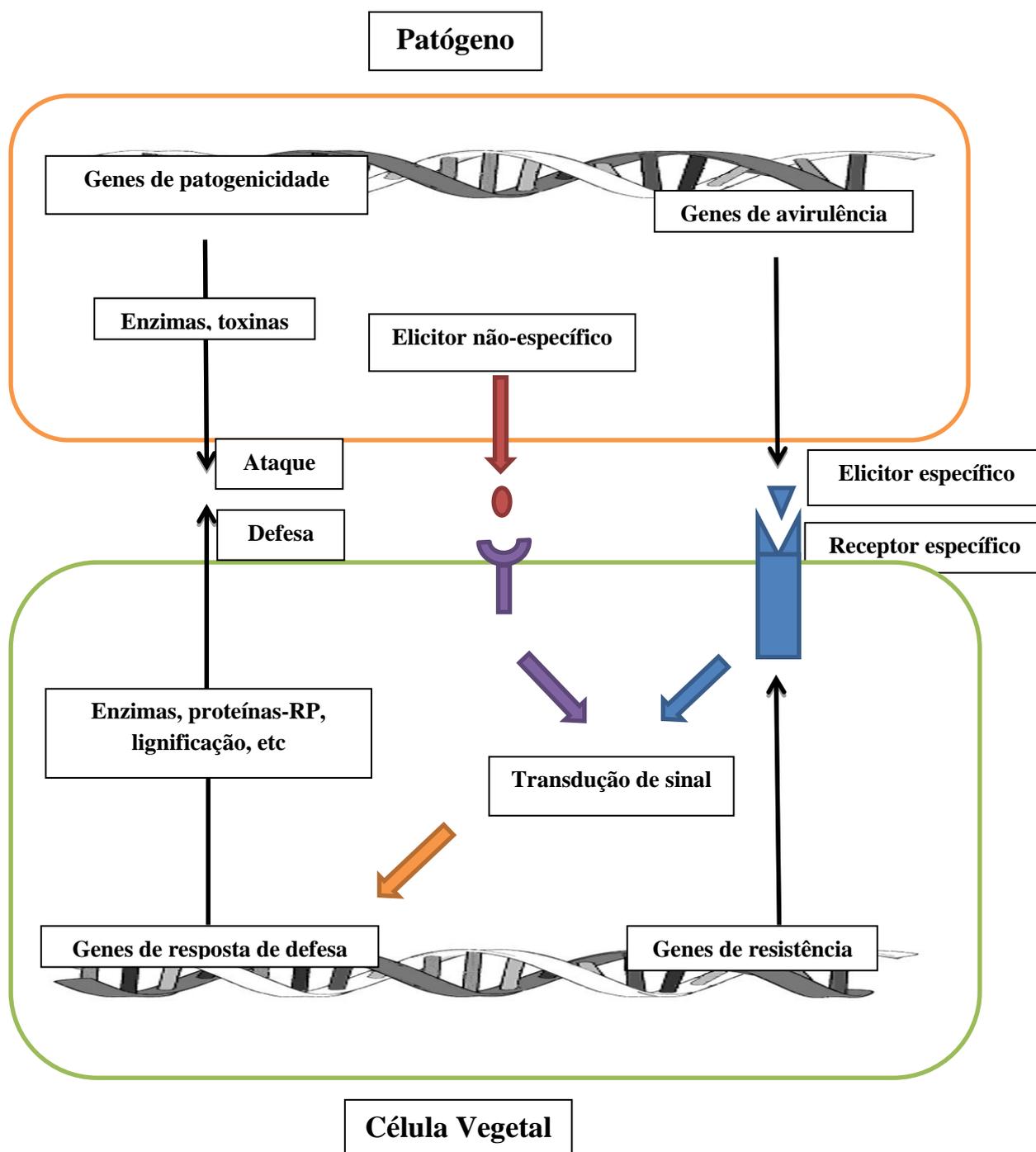


Figura 4: Modelo molecular simplificado ilustrando a interação planta-patógeno.



Considerações finais

Apesar de existir um elevado número de microrganismos ao redor dos vegetais, poucos são capazes de causar doenças em plantas, e dentre essa minoria, os fungos são os principais agentes fitopatogênicos. Muitos microrganismos podem ser neutros e outros podem ser promotores de crescimento para a planta sendo que essas relações vão depender do hospedeiro (espécie, grau de desenvolvimento, estado fisiológico) e do microrganismo (produção de enzimas, fitormônios, etc.). Os mecanismos de trocas de sinais, de defesa e estabelecimento das relações variam entre diferentes hospedeiros e microrganismos, por isso, ainda há muito a ser compreendido sobre esse assunto. Para finalizar, a relevância de todo esse conhecimento vai além de sua aplicação para agricultura, é importante para o entendimento das relações ecológicas e do processo de evolução dos seres vivos.

Referências bibliográficas

- Agrios GN. (2005) Plant Pathology. 5 ed. New York Academic Press.903p.
- Amorim L; Rezende JAM; Bergamin Filho A. (2011) Manual de Fitopatologia Volume 1 – Princípios e Conceitos. 4 ed. Editora Agronômica Ceres Ltda.
- Barilli E; Silleroz JC; Rubiales D. (2009) Induction of Systemic Acquired Resistance in Pea against Rust (*Uromyces pisi*) by Exogenous Application of Biotic and Abiotic Inducers. **The Journal of Phytopathology** 158(1): 30-34.
- Dobbelaere S; Vanderleydena J; Okonab Y. (2003). Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences** 22: 107-149.
- Drogue B; Doré H; Borland S; Wisniewski-Dyé F; Prigent-Combaret C. (2012) Which specificity in cooperation between phytostimulating rhizobacteria and plants? **Research in Microbiology** 163: 500-510.
- Galdeano DM; Guzzo SD; Patrício FRA; Harakava R. (2010) Proteção do cafeeiro contra cercosporiose por acibenzolar-S-metil e proteína harpina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 45(7): 686-692.
- Hardoim PR; Van Overbeek, LS; Van Elsas, JD.(2008) Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth.**Trends in Microbiology**16(10): 463-471.
- Harman GE. (2006) Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology** 96: 190-194.
- Kereszt A; Mergaert P; Kondorosi E. (2011) Bacteroid Development in Legume Nodules: Evolution of Mutual Benefit or of Sacrificial Victims? **MPMI** 24(11) 1300–1309.
- Métraux JP. (2001) Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**107: 13-18.
- Murray JD.(2011) Invasion by Invitation: Rhizobial Infection in Legumes. **MPMI** 24(6): 631–639.
- Pascholati SF; Leite, B; Stangarlin, JR; Cia, P. (2008) Interação Planta-Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular. 1 ed. FEALQ.
- Reinhold-Hurek B; Hurek T; (2011)Living inside plants: bacterial endophytes. **Current Opinion in Plant Biology**14:435–443.



Requena N; Serrano E; Ocón A; Breuninger M. (2007) Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. **Phytochemistry** 68: 33–40.

Segonzac C; Zipfel C. (2011) Activation of plant pattern-recognition receptors by bacteria. **Current Opinion in Microbiology** 14: 54-61.

Taiz L; Zeiger E. (2010) Fisiología Vegetal. 5 ed. **Artmed**.



Anotações:



Papel Ecológico dos Metabólitos Secundários Frente ao Estresse Abiótico

Carmen Palacios
Daniele Serra
Priscila Torres

Estresse

O estresse é provocado a partir da atuação de estímulos bióticos ou abióticos, que em geral ocorrem de forma brusca ou intensa e desencadeiam alterações no funcionamento natural dos organismos, provocando diversas respostas que podem conduzir a aclimação. Dependendo da intensidade do estresse, de seu período de incidência e do organismo afetado, a tensão sofrida poderá causar modificações genéticas. Se estas mudanças são positivas ante a pressão incidente, possivelmente haverá evolução. Neste contexto, o estresse tem importância ecológica e evolutiva.

Existem estresses de dois tipos: 1. biótico, quando atuam patógenos, alelopatia e herbívoros e 2. abióticos, quando há a alteração das condições ambientais a que o organismo se encontra aclimatado.

Estresse abiótico e metabólitos secundários

Os fatores abióticos podem influenciar direta ou indiretamente crescimento, desenvolvimento, reprodução, distribuição e sazonalidade, causando alterações na eficiência fotossintetizante, adaptação e performance de aclimação de organismos fotossintetizantes.

Deste modo, o estresse abiótico ocorre quando há modificação em condições ambientais como luz excessiva ou radiação UV, dessecação, deficiência de nutrientes, choques mecânicos, exposição a metais pesados, temperaturas altas e baixas, mudanças abruptas de temperatura, hipoxia ou anoxia e, ainda, atividades antrópicas: despejo de esgotos ou substâncias tóxicas, entre outros (Figura 1). Essas alterações abióticas são potencialmente prejudiciais para as plantas, podendo conduzir à morte de células, partes ou até mesmo todo o organismo. Dessa forma, podem ser observadas em organismos fotossintetizantes diversas respostas de proteção frente ao estresse abiótico. Dentre estas respostas, os metabólitos secundários **podem atuar como mitigadores permitindo que o organismo fotossintetizante transponha uma situação de estresse. Por isso é comum verificar mudanças qualitativas e/ou quantitativas na composição química dos organismos sob estresse abiótico, resposta ecologicamente significativa.**

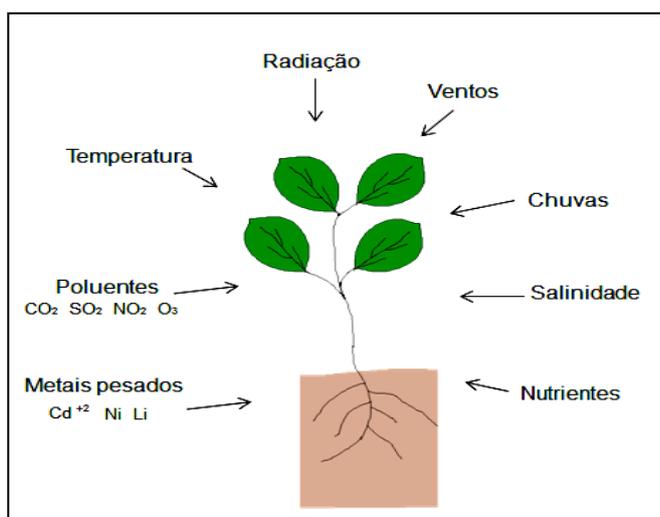


Figura 1: Esquema da incidência de alguns dos principais agentes de estresse abiótico sobre os organismos fotossintetizantes.

Tipos de estresses

Poluição



O aumento e a concentração da população humana têm gerado efeitos positivos tanto na economia como na tecnologia. No entanto, esses efeitos positivos causam modificações contínuas na atmosfera devido ao acúmulo de inúmeros poluentes e metais pesados intensificados pelas atividades humanas industriais. Dentre os principais gases de efeito estufa (GEE), o ozônio troposférico (O_3) é considerado um dos principais poluentes por ser altamente oxidativo com impacto sobre todos os ecossistemas. Em geral, poluentes como SO_2 , NO e O_3 são absorvidos através dos poros existentes na superfície foliar, chamados de estômatos. Uma vez no interior da planta, os poluentes podem reagir com a água formando compostos tóxicos ou menos tóxicos. Há também absorção realizada pelas raízes.

Em decorrência das alterações ambientais são usadas plantas bioindicadoras que reagem de forma previsível e quantificável a perturbações ambientais, apresentando a tendência de modificar suas funções vitais de diferentes formas e em diferentes níveis. Assim, a abundância de antocianinas e taninos são bons indicadores de poluição por O_3 observado em folhas de *Psidium guajava* “Palumula” na qual houve correlação positiva e significativa entre estes compostos e a concentração de 7802 ppb h O_3 . Porém, estudos em *Betula pendula* Roth não mostraram diferenças em flavonoides de folhas, não obstante, proantocianidinas e seus precursores mostraram diferenças nos caules, conjuntamente estudos de análise de açúcares totais foram significativos nas folhas.

A poluição por poeira pode causar sombreamento, fechamento dos estômatos e diminuição do fluxo de CO_2 . A avaliação comparativa do rendimento e composição do óleo essencial de *Cistus albicans* e *Pinus pinea*, em campos pedregosos e rurais, revelaram aumento no rendimento de óleo, enquanto a composição química foi inalterada. Nas ceras cuticulares, camada de natureza lipofílica que recobrem a superfície das folhas, as respostas decorrentes do aumento de CO_2 são variáveis. No entanto foi observado aumento de cera foliar em *Hymenaea courbail* (jatobá da Mata Atlântica) e redução em *H. courbail* (jatobá do Cerrado) ao serem cultivadas sob 720 ppm de CO_2 , assim como diminuição nas abundâncias relativas do perfil de *n*-alcanos e triterpenos, compostos constituintes da cera cuticular. Em outros exemplos com plantas oleaginosas, canola e soja tratadas com atmosfera enriquecida com 740 ppm e 800 ppm de CO_2 , respectivamente aumentaram o teor de cera cuticular. Todavia, estudos de acoplamento de O_3 e CO_2 podem não mostrar nenhum efeito.

Foi relatado que *Digitalis lanata* cultivada em casa de vegetação com atmosfera enriquecida com 1000 ppm de CO_2 produziu 3,5 vezes mais digitoxina (heterosídeo cardiativo utilizado na terapêutica da insuficiência cardíaca congestiva) por hectare de plantas cultivadas no campo. Por outro lado, *Plantago lanceolata* apresentou concentrações similares ou menores de iridóides quando cresceram sob 700 ppm de CO_2 . Nas emissões de compostos voláteis (terpenoides) e resinas, tratamentos com SO_2 , NO_2 e O_3 troposférico podem alterar quali- e quantitativamente a presença deles.

A absorção de metais pesados em excesso é tóxico para a maioria das plantas induzindo a emissão de etileno, por exemplo, íons de lítio induzem a expressão do gene precursor do etileno. Os metais pesados podem ser transportados via um sistema apoplástico e imobilizada na parede celular. O óxido nítrico pode agir por quelação dos íons metálicos, impedindo-os de reagir com alvos sensíveis. Por outro lado, a indução da biossíntese de compostos fenólicos foi observado em trigo em resposta à toxicidade por níquel. Plantas de *Phaseolus vulgaris* expostas ao Cd^{2+} acumularam compostos fenólicos solúveis e insolúveis e folhas de *Phyllanthus tenellus* continham mais compostos fenólicos do que as plantas controle após serem pulverizadas com sulfato de cobre.

Temperatura

As plantas são submetidas a oscilações contínuas de temperatura diurna e sazonal, sendo outro fator ambiental de grande importância e determinante do crescimento, desenvolvimento e rendimento. Já a síntese de metabólitos secundários são extremamente dependentes das condições climáticas e das características genotípicas de cada planta. Contudo, conseguem desenvolver estratégias para evitar o dano causado pela mudança súbita de temperatura, já que uma condição ideal para uma determinada planta pode ser estressante para outra.

Muitas espécies vegetais, especialmente as nativas de ambientes quentes apresentam sintomas de injúria quando expostas a baixas temperaturas, assim, por exemplo, milho, soja, algodão, tomate e banana são sensíveis a temperaturas inferiores a 15 °C devido à redução da taxa fotossintética. Estudos desenvolvidos em *Arabidopsis thaliana* e outras espécies relataram acúmulo de açúcares, prolina e poliaminas sob estresse ao frio.

Uma das principais formas de defesa diante das temperaturas extremas é a modificação estrutural da membrana plasmática na célula vegetal, que serve como barreira de permeabilidade. As temperaturas de congelamento induzem dano à membrana celular, esse dano produz desidratação aguda associada ao congelamento. A membrana lipídica é composta principalmente de duas classes de ácidos graxos, saturados e insaturados. Os ácidos graxos insaturados possuem uma ou mais duplas ligações na cadeia carbônica, enquanto os ácidos graxos saturados são totalmente saturados com átomos de hidrogênio. Devido ao ponto de fusão, os ácidos graxos insaturados solidificam-se a temperaturas mais baixas que os



ácidos graxos saturados. Portanto, a proporção relativa de ácidos graxos insaturados na membrana influencia a fluidez da membrana. Neste caso, as plantas sensíveis a baixas temperaturas têm geralmente uma porcentagem mais elevada de ácidos graxos insaturados. Contrário das plantas resistentes a baixas temperaturas, onde os ácidos graxos saturados são mais abundantes. Similarmente, o aumento da síntese de flavonoides e isoflavonoides pode ser induzida por baixas temperaturas, assim como furostanol esteroidal e saponinas espirostanol.

Sob temperatura elevada, os carotenoides na família Brassicaceae diminuíram após o tratamento térmico. Além disso, foi observado aumento da senescência foliar e concentração de metabólitos secundários na raiz de *Panax quinquefolius*; entanto, o aumento da temperatura em 5°C, mostrou acelerado armazenamento de ginsenosido (glicosídeo esteroidal). Ademais, *Hypericum brasiliense* Choisy, quando cresceu sob 36 °C, apresentou diminuição do ácido betulínico (triterpeno pentacíclico com propriedades de anti-retroviral, anti-malária, anti-inflamatório e anti-cancerígeno), porém o teor de ácidos fenólicos aumentou.

A temperatura elevada pode induzir a emissão de etileno, com um limite (cerca de 35°C) após o qual a produção é inibida. Estudos em *Arabidopsisthaliana* revelaram que o cálcio, ácido abscísico (ABA), etileno e ácido salicílico estão envolvidos na proteção contra o dano oxidativo induzido pelo calor.

As proteínas de choque térmico (HSPs, do inglês, *Heat shock protein*) são outra forma de proteção que resultam em resposta ao estresse por temperatura, entretanto, pouco é sabido sobre as vias de sinalização que origina a síntese de HSPs. Alguns autores revelaram evidências consideráveis de que o estresse oxidativo induz vias de sinalização ocasionando a acumulação de algumas HSPs.

Irradiância

Em ambientes naturais, organismos fotossintetizantes estão sujeitos a alterações na irradiância e qualidade da luz e tais mudanças podem ocorrer numa sobretaxa temporal e espacial. As flutuações na luz ocorrem em escala de segundos e controlam o nível de energia para a membrana fotossintetizante e atividades enzimáticas de assimilação e podem ocasionar estresse oxidativo.

A composição do aparato fotossintetizante e a atividade fotossintetizante, assim como os processos metabólicos dela dependentes, são altamente sensíveis à longas e/ou intensas mudanças de irradiância e qualidade espectral da luz. Como exemplo, o sombreamento natural das folhas causa a redução da relação rendimento/rendimento fotossintetizante devido à deficiência de fótons pela filtragem dos pigmentos fotossintetizantes. Além disso, as plantas podem enfrentar dificuldades não só por mudanças na irradiância, mas também com a variação dos tipos de espectros de sombra. Assim, a energia necessária para excitar um pigmento fotossintetizante depende da estrutura do próprio pigmento.

Neste contexto, os pigmentos fotossintetizantes tendem a se ajustar às condições de irradiância, sendo então possível verificar alterações globais dos pigmentos responsáveis pela absorção da luz, por exemplo, sob altas irradiâncias, os pigmentos fotossintetizantes tendem a sofrer redução em suas concentrações. Os carotenoides, por sua vez, apresentam mudança qualitativa na composição, devido a sua função, pois atuam como pigmentos acessórios e antioxidantes. Enquanto as antocianinas, pigmentos presentes em ramos jovens e considerados protetores da incidência de raios UV, apresentam aumento durante intensa irradiância.

Por outro lado, os efeitos causados pela irradiância sofrem grande influência da temperatura. Por exemplo, se uma planta é exposta a alta irradiância e a temperatura também é alta, haverá aumento da oxidação. Enquanto a mesma planta, sob igual irradiância, mas exposta a temperaturas mais baixas possivelmente apresentará oxidação pouco significativa.

Assim, em resposta ao estresse oxidativo, as plantas aumentam a produção da quantidade de substâncias que atuam como antioxidantes. Sendo que algumas dessas substâncias antioxidantes agem absorvendo o excesso de energia luminosa e liberando-a em forma de calor, forma de energia que causa menor prejuízo ao organismo. Dentre os antioxidantes que respondem ao excesso de luminosidade encontram-se ácidos fenólicos, flavonoides e aminoácidos tipo micoporinas, que atuam absorvendo a radiação UV, carotenoides, que dissipam energia via ciclo das xantofilas e antocianinas que atuam mitigando a degradação da clorofila durante o estresse por excesso de luz.

Portanto, o excesso de estímulo luminoso pode causar redução de componentes de transporte de elétrons no aparato fotossintetizante, lignificação e embora a aclimação às mudanças de irradiância em organismos fotossintetizantes possa ocorrer em escala de minutos a horas, a mudança mais dramática durante a exposição desses organismos ao excesso de irradiância é a fotoinibição, que acontece quando a taxa de conversão de energia luminosa é menor do que a taxa de absorção de energia luminosa.

Salino



Este tipo de estresse se caracteriza pelo aumento na quantidade de sal no ambiente em que a planta vive. O processo de salinização pode ser natural ou causado pelos seres humanos. O processo de salinização natural, o mais comum, ocorre em regiões áridas e semiáridas, principalmente onde os lençóis freáticos estão muito próximos à superfície do solo. Isso facilita a subida da água por evaporação nos solos secos destas regiões, deixando para trás os sais que estava carregando (Figura 2).

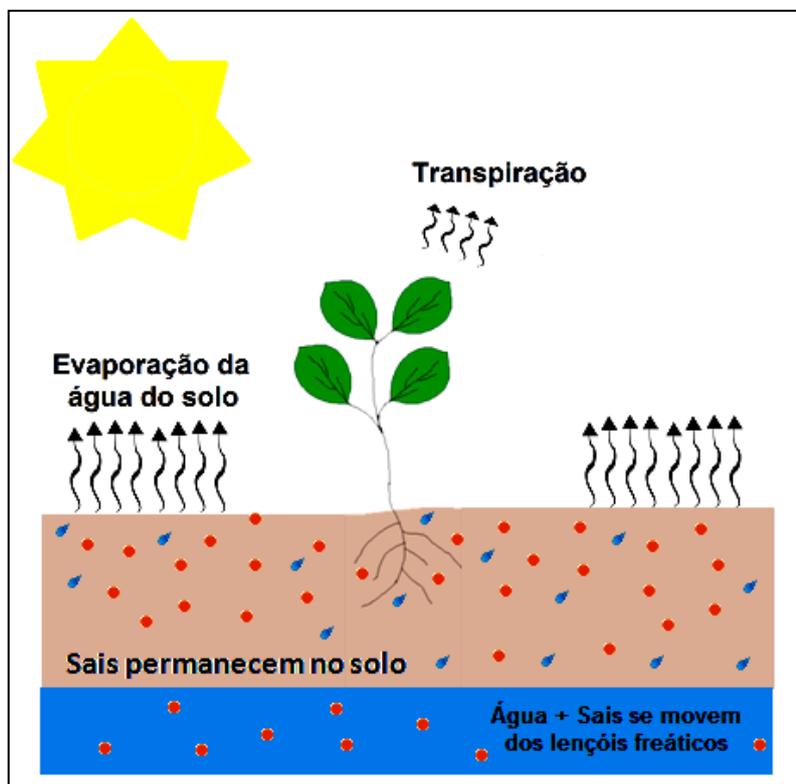


Figura 2: Esquema do processo da salinização que ocorre naturalmente em regiões áridas e semiáridas

Já o processo de salinização causado de forma antrópica, ocorre pelo manejo inadequado com irrigações excessivas associadas à pouca drenagem de alguns tipos de solo. Também, a água acumulada evapora e acaba deixando os sais no solo (Figura 3). Esta é uma das principais causas de perda de solos agrícolas no mundo todo.

Estudos mostram que as plantas apresentam graus distintos de tolerância à salinidade, assim, plantas que apresentam uma alta tolerância são ditas halófitas, por exemplo, as plantas de manguezais. Já as plantas sensíveis a níveis mais altos de sais são ditas glicófitas. A maioria das plantas terrestres incluindo as alimentícias de interesse econômico, são glicófitas. Sendo assim, a alta salinidade pode prejudicar o desenvolvimento e o crescimento da planta devido a fatores osmóticos e iônicos. Os fatores osmóticos ocorrem em decorrência do acúmulo de sais dissolvidos no solo, que causam a redução do potencial hídrico, dessa forma diminuindo a disponibilidade de água para as raízes, enquanto os fatores iônicos surgem como consequência da absorção excessiva de íons, principalmente Na^+ e Cl^- que acarretam em toxicidade para as plantas. Ambos os fatores agem interferindo em processos metabólicos diversos, por exemplo, provocando foto-inibição e estresse oxidativo.

As plantas possuem estratégias contra o estresse salino. Dentre estas estratégias, mudanças qualitativas e quantitativas nos metabólitos secundários são comuns. Em consequência do estresse oxidativo, é comum verificar mudanças tanto nos níveis de antioxidantes, como em muitas substâncias fenólicas, tais como flavonoides e ácido fenólicos. Por outro lado, durante o estresse osmótico é comum verificar o aumento de substâncias de baixo peso molecular que ajudam a manter o equilíbrio osmótico nas células, essas substâncias são ditas osmólitos. Entre os osmólitos mais comuns, estão os polióis, como sorbitol, manitol, glicerol e pinitol e compostos nitrogenados, como a glicina-betaína e a prolina.

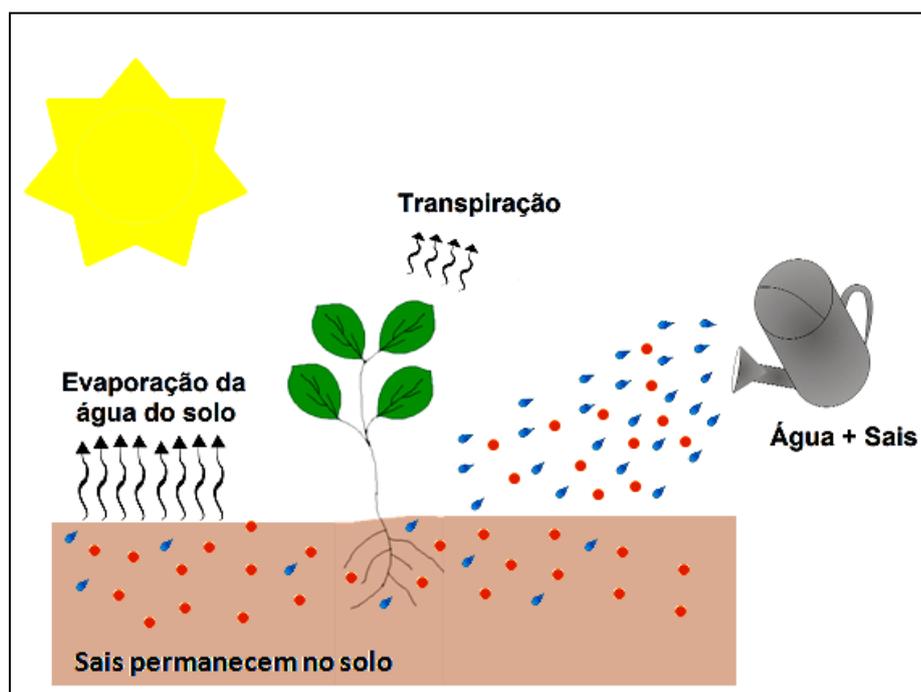


Figura 3: Esquema do processo da salinização por irrigação excessiva

Hídrico

O estresse hídrico pode ser gerado pela deficiência ou excesso da disponibilidade de água para as plantas. Plantas que colonizam regiões de mangue, várzeas ou áreas próximas a rios e lagos estão sujeitas a este tipo de estresse, que pode ser altamente letal, pois prejudica a troca de gases entre o solo e as raízes, causando estresse oxidativo. Assim sob estresse hídrico, decorrente do excesso de água, a produção de antioxidantes pelas plantas é intensificada.

Ademais o estresse hídrico é um fator ambiental de grande relevância e o mais estudado. Tal estresse pode ser sazonal ou crônico em regiões áridas. Além disso, previsões apontam que o efeito das secas possivelmente seja intensificado a partir das mudanças climáticas e a consequente escassez de água.

Assim, o déficit hídrico da mesma forma que o estresse salino pode resultar em desidratação celular e desequilíbrio osmótico. Uma das primeiras respostas das plantas devido à baixa disponibilidade de água é o fechamento dos estômatos. Dessa forma, há a restrição da difusão do CO_2 dentro das folhas, que afeta diretamente a fotossíntese gerando um estresse oxidativo. Sob tal condição, o estresse oxidativo promove a alteração da relação entre pigmentos fotossintetizantes em decorrência da diminuição da eficiência da fotossíntese, além disso, é comum o incremento de antioxidantes como ácidos fenólicos e flavonoides.

Dentre os flavonoides, as antocianinas são aumentadas expressivamente em resposta ao déficit hídrico em algumas plantas, porém há dúvidas se essas substâncias atuam como antioxidantes, como osmólitos ou mesmo como fotoprotetores. Apesar deste debate, quanto à função, não há dúvida que as antocianinas são importantes neste tipo de estresse; sabe-se, por exemplo, que cultivares de pimentas vermelhas, ricas em antocianinas, são mais resistentes aos déficits hídricos do que cultivares verdes. Semelhante debate continua em relação a outras substâncias como os alcaloides, por exemplo, a capsaicina em pimentas ou glicosídeos cianogênicos, como a linamarina em mandiocas que também apresentam um aumento massivo em respostas à seca.

Além disso, quanto ao estresse osmótico, respostas similares ao estresse salino foram observadas em relação ao aumento de osmólitos que têm papel de ajuste osmótico, ajudando a restaurar a absorção de água. Outra estratégia adotada por plantas expostas a déficit hídrico é o aumento da espessura das cutículas, além de mudanças em suas composições, como o aumento de *n*-alcanos e cutina que já foram observados em *Arabidopsis thaliana*, por exemplo.

De forma geral, plantas expostas a estresse hídrico por deficiência de água ou estresse salino apresentam aumento de metabólitos secundários como alcaloides, glicosídeos cianogênicos, substâncias fenólicas, terpenos, dentre outras. Estas características valorizam o sabor e aroma de temperos e o potencial farmacêutico de plantas medicinais cultivadas em regiões secas e semiáridas, já que metabólitos secundários são geralmente substâncias de interesse.

Nutricional



Este tipo de estresse se caracteriza pelo excesso ou a escassez de um determinado tipo de nutriente para a planta. Os efeitos deste tipo de estresse conduzem a alterações quantitativas e qualitativas na composição dos metabólitos secundários.

Em situações de excesso de nitrogênio, por exemplo, as plantas podem deslocar as vias para a produção de compostos nitrogenados como alcalóides, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos. Já a escassez de nitrogênio e de outros nutrientes como fósforo, enxofre e potássio podem promover o aumento de substâncias fenólicas, como antocianinas ou de precursores de ligninas, neste caso, promovendo uma maior lignificação.

O aumento de nutrientes, consequência comum do uso inadequado de fertilizantes, também pode provocar um estresse salino, como visto anteriormente.

Já os micronutrientes são pouco estudados, magnésio e molibdênio, por exemplo, quando em excesso podem provocar aumento de glicosídeos cardioativos em *Digitalis grandiflora*. A falta de um determinado micronutriente também pode provocar alterações nos metabólitos secundários, por exemplo, a redução de boro em palmeiras diminui a produção de substâncias fenólicas.

Conclusão

Portanto, de acordo com as informações anteriores, os estresses abióticos são responsáveis por provocar a produção de compostos oxidantes, que sinalizam respostas antioxidantes. Essas respostas antioxidantes agem mitigando o estresse oxidativo, conferindo maior resistência e podendo conduzir a aclimação do organismo.

Os metabólitos secundários variam de acordo com cada espécie, sendo disparados os que mais se adequam à condição de estresse atuante, considerando os fatores que agem diretamente na disponibilidade dos metabólitos, como por exemplo, a nutrição, que será determinante na produção dessas substâncias.

Assim, embora os metabólitos secundários apresentem sítios de atuação e funções específicas, muitos desses provocam respostas semelhantes (e.g., a lignificação que é resultado de vários processos de estresse). Então, a principal função dos metabólitos secundários, ante ao estresse, é evitar o dano crônico e consequentemente a morte dos organismos, para que possíveis alterações genéticas decorrentes possam conduzir mais rapidamente a aclimação e finalmente a especialização da espécie.

Referências bibliográficas

Abogadallah GM. (2010). Antioxidative defense under salt stress. **Plant Signal Behav**5(4): 369-374.

Andersson M; Schubert H; Pedersén M; Snoeijs P. (2006). Different patterns of carotenoid composition and photosynthesis acclimation in two tropical red algae. **Marine Biology** 149: 653–665.

Abreu IN; Mazzafera P. (2005). Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. **Plant Physiology and Biochemistry** 43: 241-248.

Athukorala Y; Lee K-W; Song C; Ahn C-B; Shin T-S; Cha Y-J; Shahid F; Jeon Y-J. (2003). Potential, antioxidant activity of marine red alga *Grateloupia filicina* extracts. **Journal of Food Lipids** 10: 251-265.

Bahler BD; Steffen KL; Orzolek MD. (1991). Morphological and biochemical comparison of a purple-leafed and a green-leafed pepper cultivar. **HortScience** 26: 736.

Bhandari R; Sharma, PK. (2006). High-light-induced changes on photosynthesis, pigments, sugars, lipids and antioxidant enzymes infreshwater (*Nostoc spongiaeforme*) and marine (*Phormidium corium*) cyanobacteria. **Photochemistry and Photobiology** 82: 702–710.

Buchanan B; Gruissem W; Jones RL. (2000). Biochemistry and molecular biology of plants. **American Society of Plant Physiologists**.

Dawes CJ; Orduña-Rojas J; Robledo D. (1999). Response of the tropical red seaweed *Gracilaria cornea* to temperature salinity and irradiance. **Journal of Applied Phycology** 10: 419–425.



- Esteves BS; Suzuki MS. (2008). Plants under effect of salinity. **Oecologia Australis 12: 662-79.**
- Figueiredo AC; Barroso JG; Pedro LG; Scheffer JJ. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal 23: 213-226.**
- Gobbo-Neto L; Lopes NP. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova 30: 374-81.**
- Gratão PL; Polle A; Lea PJ; Azevedo RA. (2005). Making the life on heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology 32: 481-484.**
- Halliwell B; Gutteridge JMC. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochemical Journal 219: 1-14.**
- Heldt H-W. (2011). Plant Biochemistry. Fourth edition. Elsevier.
- Kosma DK; Bourdenx B; Bernard A; Parsons EP; Lu S; Joubes J; Jenks MA. (2009). The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of Arabidopsis. **Plant Physiology 151: 1918-29.**
- Krieger-Liszkay A; Fufezan C; Trebst A. (2008). Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. **Photosynth Res 98: 551-564.**
- Mahajan S; Tuteja N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Arch Biochem Biophys 444: 139-158.**
- Merzlyak MN; Chivkunova OB. (2000). Light stress induced pigment change and evidence of Anthocyanin photoprotection in apples. **Journal of Photochemistry and Photobiology B. 55: 155-163.**
- Plastino EM; Mansilla A. (2004). Luz y fotosíntesis. In: Werlinger, C. Biología Marina y Oceanografía: conceptos y procesos. Consejo Nacional del Libro y Lectura - Universidad de Concepción. **Trama Impresos S.A. Chile.**
- Ramakrishna A; Ravishankar GA. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior 6: 1720-31.**
- Raven JA. (2011). The cost of photoinhibition. *Physiologia Plantarum* 142: 87-104.
- Rezende FM; Furlan CM. (2009). Anthocyanins and tannins in ozone-fumigated guava trees. **Chemosphere 76: 1445-1450.**
- Scandalios JG. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical Biological Research 38: 995-1014.**
- Selmar D. (2008). Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. **Landbauforschung 58: 139-144.**
- Shanker AS; Venkateswarlu B. (2011). Abiotic Stress in Plant – Mechanisms and Adaptations. **In Tech.**
- Smith H. (1982). Light quality, photoreception and plant strategy. **Annual Review of Plant Physiology 33: 481-518.**
- Sreenivasan S; Ibraim D; Kassim JKM. (2007). Free radical scavenging activity and total phenolic compounds of Gracilaria changii. **International Journal of Natural and Engineering Sciences 1: 115-117.**
- Szabo MR; Iditoiu C; Chambre D; Lupea AX. (2007). Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. **Chemical Papers 61: 214-216.**
- Vass I. (2011). Role of charge recombination processes in photodamage and photoprotection of the photosystem II complex. **Physiologia Plantarum 142: 6-16.**



Vass I; Cser K. (2009). Janus-faced charge recombinations in photosystem II photoinhibition. **Trends in Plant Science 14: 200-205.**

Young A; Britton G. (1993). Carotenoids in photosynthesis. Chapman & Hall.

Yuan YV; Bone DE; Carrington MF. (2005). Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. **Food Chemistry 91: 485-494.**



Anotações:



Mecanismos Fisiológicos e Moleculares do Desenvolvimento Radicular

Paulo Marcelo Rayner Oliveira

O sistema radicular é uma estrutura geralmente subterrânea que, na grande maioria das plantas, não tão bem observado como a parte aérea. No entanto, este órgão exerce importantes funções como absorção de água e nutrientes, sustentação da planta no substrato (solo, rochas, troncos), reserva energética e até mesmo fotossíntese. Da mesma forma que a parte aérea, as raízes também apresentam uma grande plasticidade. Sabe-se que composição do solo (areia, argila, silte) bem como a compactação, disponibilidade de nutrientes, status hídrico do substrato, acidez ou alcalinidade, podem facilmente modular toda arquitetura radicular.

Tendo em vista que as plantas tem o seu crescimento e desenvolvimento fortemente influenciadas pelas condições ambientais, é primordial a ação dos hormônios vegetais (ou fitormônios). Sabe-se que quase todos os eventos que acontecem no corpo da planta tem a participação destas moléculas. As principais classes hormonais são: Auxina (AIA), Citocininas (CK), Giberelinas ou Ácido Giberélico (AG), Ácido Abscísico (ABA) e o Etileno. Toda via, existem também outras substâncias reguladoras do crescimento como os Brassinosteróides, Ácido Salicílico, Ácido Jasmônico, Estrigolactonas e o Óxido Nítrico. Tendo em vista a importância estas moléculas, veremos um pouco dos processos dos quais alguns destes compostos participam durante o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular.

Conhecendo um pouco melhor a anatomia da raiz (Fig.1), temos que as seguintes divisões: Zona Meristemática (ZM), Zona de transição (ZT), Zona de alongamento (ZA) e Zona de Diferenciação/Maturação (ZD). A região meristemática compreende o Nicho de Células Tronco (NCT) que é formada pelo Centro Quiescente (CQ) – equivalente ao Centro Organizador do meristema apical caulinar – e as células tronco propriamente ditas. Também constitui esta região a coifa, que em uma análise longitudinal, é formada a partir de divisões que ocorrem em direção à parte apical da raiz, ou seja, de dentro para fora. Esta estrutura funciona como uma barreira conferindo proteção ao CQ e ao NCT da columela. Além disso, ela também favorece a penetração da raiz no substrato decorrente da presença de uma mucilagem. Outra função da coifa é a gravipercepção, ou seja, percepção do sentido do vetor gravitacional. Mudanças na orientação do corpo da planta podem direcionar o crescimento da raiz. A Zona de transição se localiza entre a RM e a ZA, neste local as células recebem as informações da identidade tecidual. No entanto ainda estão indiferenciadas. A Zona de alongamento é a parte da raiz onde as células vão crescer longitudinalmente e onde vão começar a apresentar a identidade tecidual que foi determinada ainda na região meristemática e Zona de Transição. E por fim, a Zona de Diferenciação e Maturação é a região onde as células vão completar o seu desenvolvimento.

Além da divisão espacial, a raiz também possui a divisão de tecidos (Fig.1). A camada mais interna é formada pelo cilindro vascular. Este é composto pelo xilema e floema, que são componentes do sistema vascular, não só da raiz, mas da planta inteira. Adjacente ao cilindro, temos o periciclo. Este tecido é conhecido por ter células com características meristemáticas e local onde formam as raízes laterais. Externamente ao periciclo encontra-se a endoderme. Esta camada é a uma barreira divide o córtex do cilindro, por possuir uma estrutura de impermeabilização que sela os caminhos do apoplasto (espaço intercelular), fazendo com que água e nutrientes entrem na planta via simplasto (espaço intracelular). A união do cilindro vascular, periciclo e endoderme, forma o estelo. Por fim temos o já citado córtex, que funciona principalmente como tecido de absorção e acúmulo e a epiderme que é o tecido de revestimento da raiz.

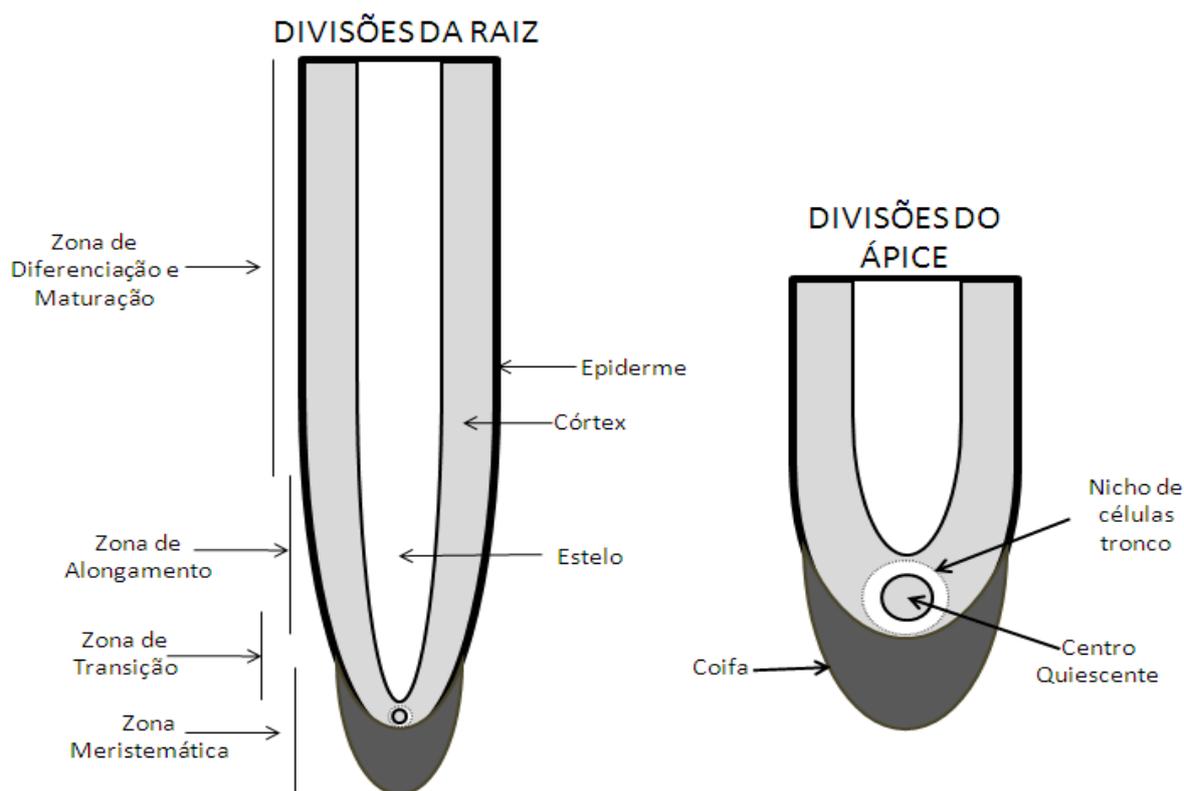


Figura1 – Divisões e organização tecidual da raiz.

Sabendo o básico da organização radicular, vamos entender a origem deste complexo sistema. O primeiro passo no processo de formação do corpo da planta é a determinação do polo caulinar e polo radicular. Durante este processo, a auxina aparece como protagonista durante a formação do polo radicular. Este hormônio é um regulador positivo de um fator de transcrição o AUXIN RESPONSE FACTOR5/MONOPTEROS (ARF5/MP). A expressão ARF5 leva à indução de outro fator de transcrição o TARGET OF MONOPTEROS7 (TMO7). No momento da expressão do TMO7, este é transportado para a hipófise, e então acontece determinação do polo radicular. Também faz parte deste processo de regulação o BODENLOS (BDL) e TOPLESS (TPL). Entretanto este conjunto atua como repressor do ARF5/MP. BDL e TPL são regulados negativamente pela auxina. Deste modo temos um circuito de regulação onde a auxina induz expressão do ARF5 que leva à expressão de TMO7 dando origem à iniciais da raiz primária. E o BDL e TPL controlando a expressão de ARF5, restringindo o destino celular apenas às células da hipófise. Além deste mecanismo, temos outro que atuam de forma complementar. Neste estão envolvidos os fatores de transcrição PLETHORA (PLT) e CLASS III HOMEODOMAIN-LEUCINE ZIPPER (HD-ZIP III). PLT tem sua expressão induzida pela auxina, que na fase embrionária atua na especificação das células tronco da raiz. Além disso, PLT inibe HD-ZIP III que está envolvido no processo de determinação do polo caulinar e regula negativamente a expressão de PLT. Assim estes dois fatores protagonizam um circuito de regulação complementar. Neste momento também ocorre a determinação do centro quiescente e do nicho de células tronco. Este evento é mediado pela auxina que induz a expressão de ARR7 e ARR15 e estes inibem a sinalização da citocinina. E pela citocinina que vai determinar o centro quiescente. Veja abaixo (Fig.2)



EMBRIÃO NA FASE GLOBULAR

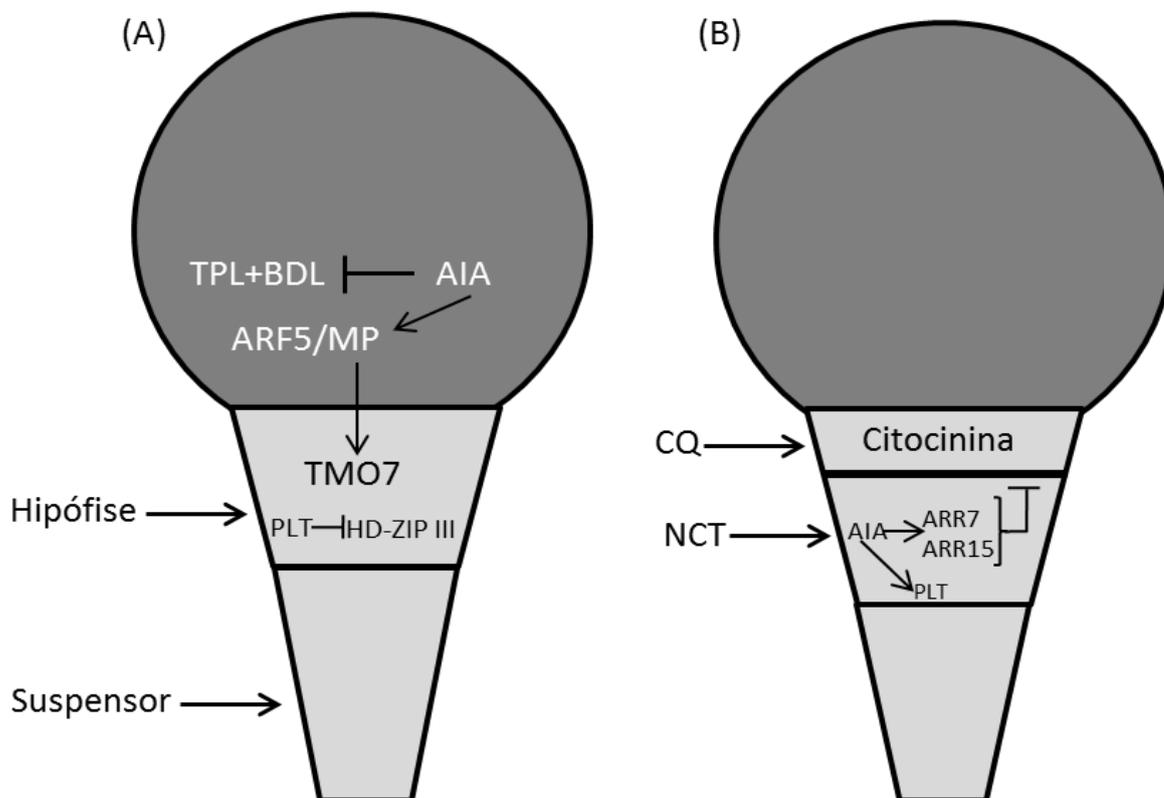


Figura2 – Em (A) o processo de formação da hipófise com a auxina inibindo o conjunto BDL+TLP e induzindo ARR5/MP que promove a expressão de TMO7. Em (B) o processo de formação do CQ por ação da citocinina e NCT por ação da auxina induzindo a repressão da citocinina.

O simples fato do estabelecimento do CQ e do NCT não garante o desenvolvimento da raiz; para isso é necessário manutenção da atividade meristemática, pois é o que vai garantir o a quiescência das células do CQ e o funcionamento do nicho de células tronco. Para controlar esta situação das células, existem mecanismos que funcionam em conjunto. Um deles é comandado pelos fatores de transcrição SCR, SHR. A dinâmica acontece da seguinte forma: SHR que é expresso do estelo que induz a formação de uma proteína que recebe o mesmo nome do regulador SHR. Esta proteína é transportada até o CQ e interage com a proteína SCR formando um complexo proteico. Esta estrutura induz a ativação do próprio SCR, sendo que este é responsável por impedir que as células do CQ se diferenciem em outros tipos de célula. O outro sistema possui PLT1 e PLT2. Estes fatores de transcrição, que são regulados pela auxina, induzem a expressão das proteínas PIN. Isto ajuda a manter altos níveis de auxina no CQ e no NCT inibindo a diferenciação celular. Veja esquema abaixo (Fig.3)

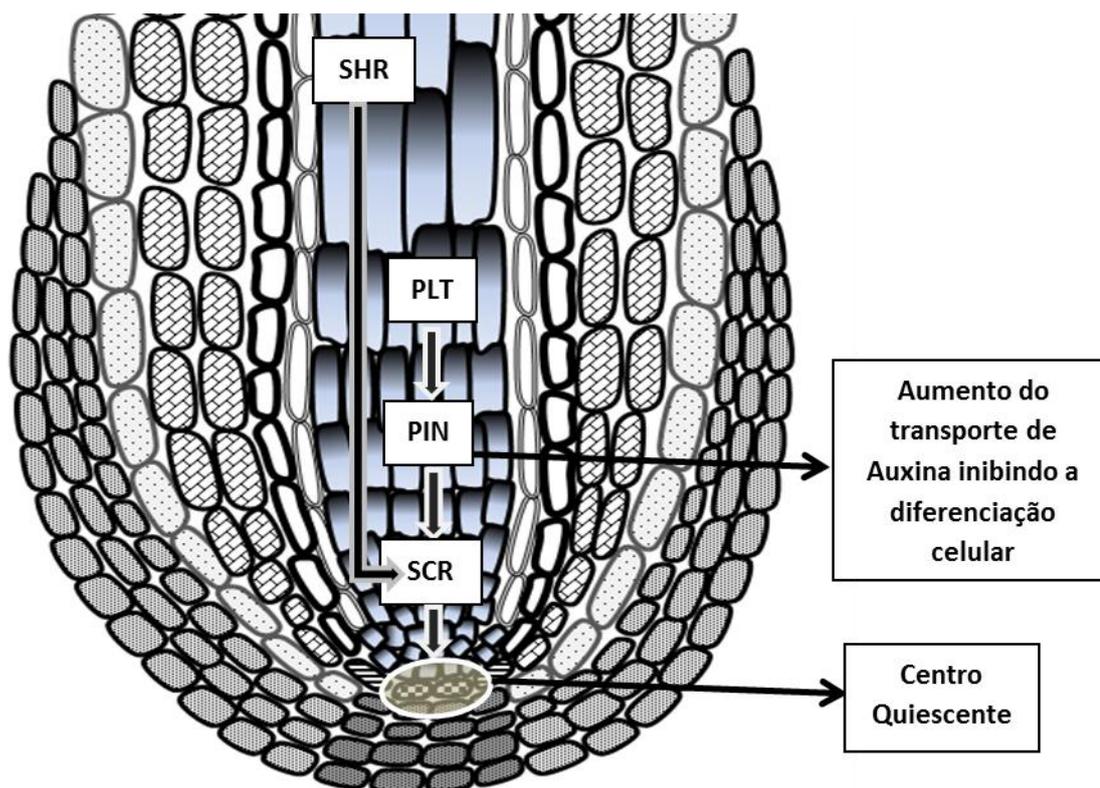


Figura 3 – Interações moleculares que mantêm o Centro Quiescente.

Outro ponto crucial neste processo é a manutenção do tamanho do meristema, pois é o que comanda o crescimento e desenvolvimento radicular. A interação da auxina com a citocinina é o que comanda parte deste processo. Sabe-se que estes dois hormônios podem interagir de forma positiva ou antagonista, sendo que diferentes fatores vão determinar o tipo de interação destas moléculas. No caso da região meristemática, há um antagonismo onde a auxina vai manter a alta taxa de divisão celular das células próximas ao meristema e a citocinina vai controlar a taxa de diferenciação na região abaixo do meristema - a zona de transição. Este controle se dá através da regulação do gene *SHORT HYPOCOTYL2* (*SHY2*), que controla a produção da proteína *SHY2*. *SHY2* é um repressor da auxina. Entretanto própria auxina, em altas concentrações, leva à repressão de *SHY2*. Já a citocinina, através do *ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR1* (*ARR1*), induz a expressão de *SHY2* na região vascular da região de transição. Mas este gene possui outra função que é reprimir a proteína *PIN*. Menores níveis de auxina e proteínas *PIN* tem como consequência menores níveis de auxina e menor atividade mitótica, respectivamente. Todavia, vale lembrar que mesmo com a inibição de alguma *PIN*, outras continuam o transporte, pois se o fluxo de auxina for totalmente interrompido, o CQ e o NCT serão prejudicados. Este mecanismo determina o tamanho do corpo da raiz. Outro fato que controla o tamanho do meristema é gerido pelo fator de transcrição, que é expresso no CQ, *WUS-RELATED HOMEODOMAIN 5* (*WOX5*) que é homólogo ao *WUSHEL* (*WUS*) que atua no centro organizador do meristema apical caulinar. O *WOX5* assim como *WUS* é regulado negativamente por um peptídeo o *CLE40*, que é homólogo ao *CLAVATA3* (*CLV3*). Neste caso o *WOX5* possui a função induzir a proliferação das células tronco que originam a columela. Sabe-se que este é regulado positivamente pelo *SCR* que é induzido pela auxina. Enquanto que *CLE40*, que está presente na columela, regula negativamente a expressão do *WOX5* o que permite a diferenciação das células que vão formar a columela, conforme mostrado na Figura 4.

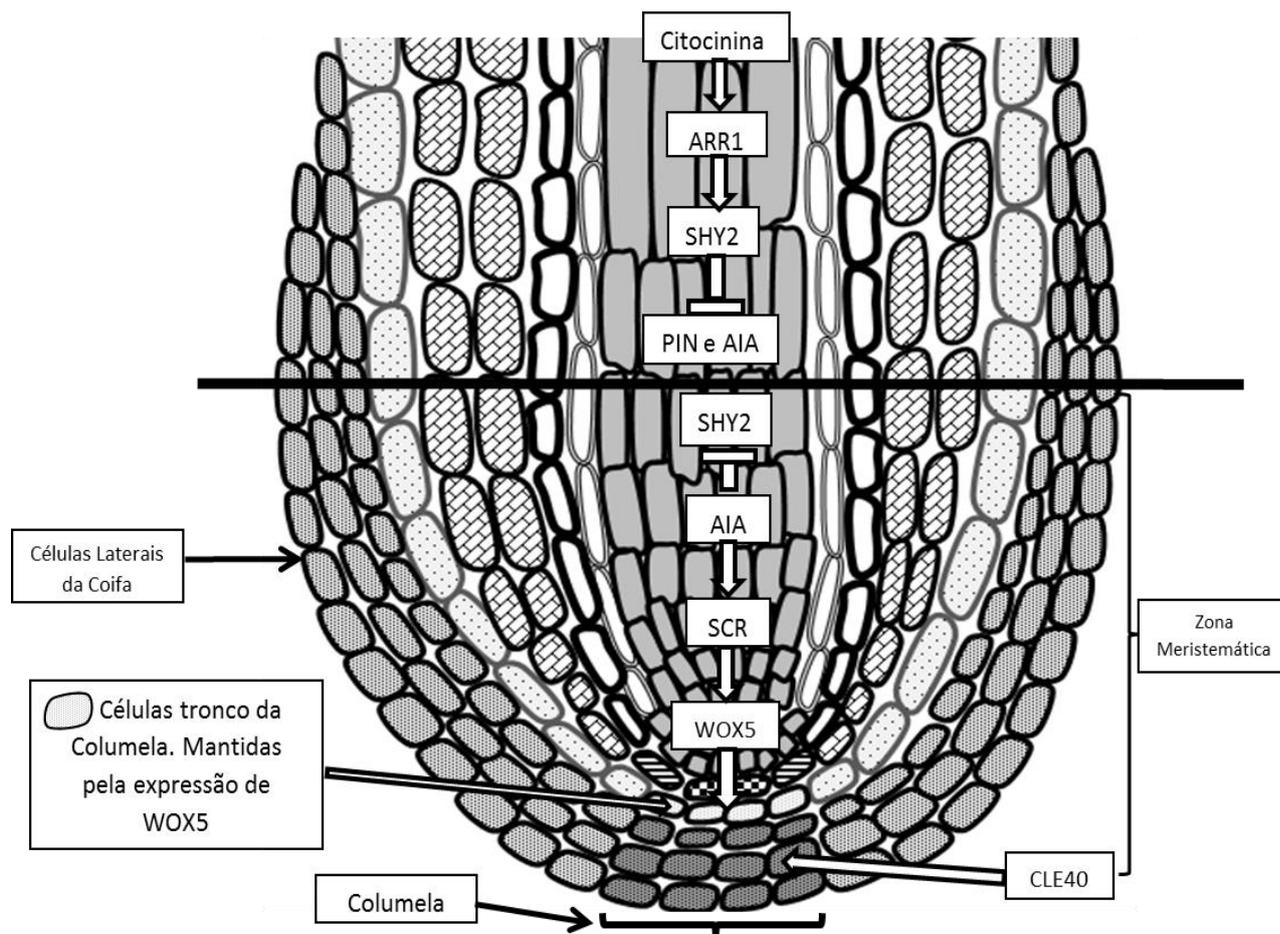


Figura 4 – Processo do controle da atividade meristemática.

Partindo para o processo de diferenciação, temos a formação do floema. Como dito anteriormente, no caso da raiz, juntamente com o xilema ele forma o cilindro vascular. Temos como elementos constituintes do floema, as células companheiras e os elementos de vaso. Existem dois fatores que mostram ser extremamente importantes na especificação dos tecidos floemáticos. O primeiro, e imprescindível, é o OCTOPUS (OPS). Sua expressão ocorre primariamente próxima ao CQ, uma de suas funções é determinar o destino celular para formação do floema. Outro importante papel é promover a continuidade no processo de diferenciação das células deste tecido. O segundo fator é o ALTERED PHLOEM DEVELOPMENT (APL) que é responsável pela diferenciação das células companheiras e elementos de vaso. Além disso, este fator aparentemente inibe a diferenciação do xilema. APL e OPS trabalham de forma complementar. Plantas mutantes *ops* (plantas que são defectivas deste fator de transcrição) não apresentam células com características floemáticas como presença de calose, espessamento da parede e alongamento. Já mutantes *apl* apresentam atraso na iniciação das divisões celulares que vão gerar as células companheiras e elementos de vaso, problemas na formação do protofloema e metafloema. Entretanto, sabe-se que outros fatores também atuam junto com OPS e APL, mas o funcionamento ainda não estaria bem elucidado.

Completando o cilindro vascular temos o xilema. Um dos reguladores de sua formação é o *fator de inibição da diferenciação de elementos traqueídeos* (TDIF) (do Inglês Tracheary Element Differentiation Inhibitory Factor). Este é um peptídeo que exibe funções como inibição da diferenciação das células do procâmbio e indução da proliferação destas células, além de induzir a expressão do WOX4 que atua na manutenção das células procambiais. Com relação à diferenciação dos tecidos xilemáticos, temos dois genes da família VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN (VND). Neste caso VND6 inicia a diferenciação do metaxilema e o VND7 que age diferenciando o protoxilema. E estes dois genes juntamente com SECONDARY WALL-ASSOCIATED NAC DOMAIN PROTEIN1 (SND1) são responsáveis por compor uma grande e complexa cascata de sinalização que leva à deposição de parede secundária, processo este induzido por MYB. Vale ressaltar que estes são apenas alguns dos reguladores da formação do xilema. Uma imensa quantidade de genes está envolvida no processo alguns já bem estabelecidos, outros nem tanto. Além disso, hormônios como auxina, citocinina, etileno também atuam no processo de formação. A alternância no balanço entre a auxina e citocinina determina a



diferenciação entre metaxilema e procâmbio. Estudos mostram que peptídeos CLE degradam alguns ARR's que são específicos na regulação negativa da citocinina, neste caso seria inibida a formação do protoxilema devido à presença da citocinina. Em contrapartida a auxina induz a expressão de ARR's que atuaria na contramão. Essa oscilação de repressão e indução determinaria o destino celular das iniciais do xilema.

Outro tecido que compõe o estelo juntamente com floema, xilema e endoderme é o periciclo. Sabe-se que este preserva características meristemáticas em algumas células. Estas células se localizam nos polos do xilema, e é exatamente nesta região que ocorre a formação das raízes laterais. O mecanismo que está por trás deste evento é liderado principalmente pela auxina. Este hormônio é transportado de duas formas. O primeiro é o transporte à longa distância que é feito através do floema, sendo o meio mais rápido. Já a segunda é o chamado “transporte polar” que é mediado pelas proteínas PIN. No modo polar, a auxina é transportada célula a célula e conseqüentemente é um processo mais demorado. No transporte polar, a auxina entra nas células pelos carreadores de influxo os AUX/LAX e sai através dos já citados carreadores de efluxo as proteínas PINs. Em *Arabidopsis* a indução da raiz lateral ocorre ainda na região zona de transição através do transporte polar de auxina. Outro hormônio aparece como regulador positivo do processo: o etileno. A dinâmica acontece da seguinte forma: A auxina é transportada basipetamente pelas proteínas PIN. Estas tem a função não só de realizar o transporte basípeto, mas também fazem a redistribuição da auxina no corpo da raiz. O etileno por sua vez tem sua síntese induzida pela auxina e as células na presença de etileno se tornam mais sensíveis à ação da auxina. Por consequência destes eventos, células do periciclo responsivas à auxina entram em processo de divisão ocorrendo a formação da nova raiz lateral.

Completando o estelo, temos a endoderme. A formação deste tecido acontece concomitantemente com a formação do córtex. Isso se deve ao fato da interação entre o SHR e o SCR. Da mesma forma que SHR é transportada ao CQ, existe o transporte para células iniciais que são derivadas do CQ. A divisão desta célula inicial dá origem à endoderme e ao córtex. Estudos mostraram que mutantes *shr* (plantas que são deficientes de SHR) possuem uma camada de células que se assemelha com córtex. Já mutantes *scr* possuem tecidos que se assemelham ao córtex e endoderme. Entretanto não há uma distinção entre os dois tecidos. Sendo assim, tudo leva a crer que SHR esteja ligado à determinação da identidade da endoderme.

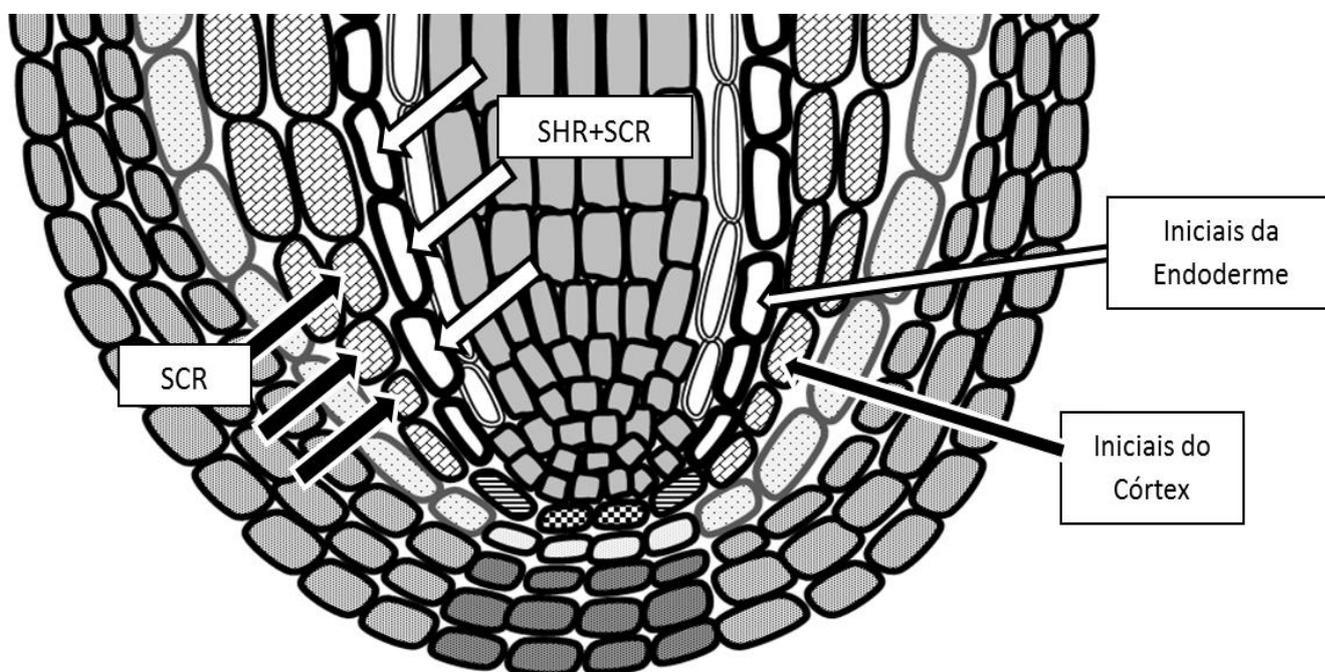


Figura 5 – Esquema de formação da endoderme e córtex.

Finalmente revestindo a raiz temos a epiderme. Em algumas plantas, ela é originada das iniciais da columela, em outras a partir da diferenciação das células do córtex. Em *Arabidopsis* a epiderme é formada, em camadas alternadas, por dois tipos de células os tricoblastos e atricoblastos. A diferença entre estes dois tipos celulares está na capacidade de



formação dos pelos radiculares. Esta estrutura constitui-se na verdade de expansões da parede celular da região jovem da raiz, que aumenta superfície de contato e conseqüentemente proporciona uma maior absorção de água e nutrientes. Existem alguns fatores de transcrição que regulam a formação dos pelos radiculares. Um deles é o GLABRA2 (GLB2), que é responsável por inibir a formação de pelos nos atricoblastos e é regulado positivamente por um complexo de fatores de transcrição TRANSPARENT TESTA GLABRA 1 (TTG1) e WEREWOLF (WER). O complexo TTG-WER também induz a produção da proteína CAPRICE (CPC) no atricoblasto. Entretanto, CPC é transportada para o tricoblasto onde entra em ação inibindo o próprio WER-TTG1. Esta inibição conseqüentemente leva repressão do GLB2, permitindo formação dos pelos radiculares. O modo como este transporte ocorre ainda não é bem entendido.

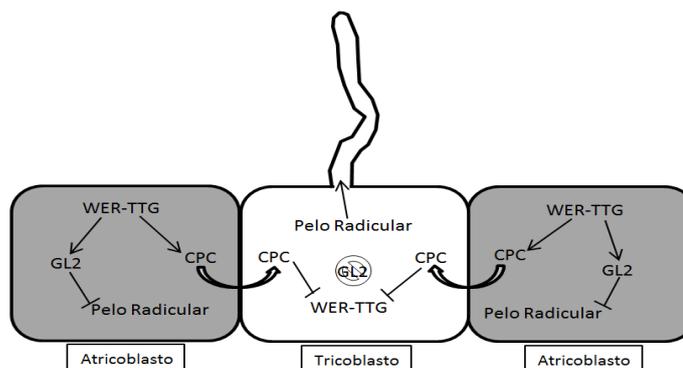


Figura 6 – Mecanismos de formação dos pelos radiculares.

Foi apresentada uma pequena parcela dos mecanismos que são responsáveis por gerenciar o crescimento e desenvolvimento radicular. As informações foram baseadas no modelo *Arabidopsis*.

Referências bibliográficas

Pirilli S; Di Mambro R; Sabatini S. (2012) Growth and development of the root apical meristem. **Current Opinion in Plant Biology** 15:17-23.

Jiang K, Feldman LJ. (2005) Regulation of Root Apical Meristem Development. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.** 21:485–509.

Vanstraelen M; Benková E. (2012) Hormonal Interactions in the Regulation of Plant Development. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.** 28:463-487.

Lucas WJ; Groover A; Lichtenberger R; Furuta K; Yadav SR; Helariutta Y; He XQ; Fukuda H; Kang J; Brady SM; Patrick JW; Sperry J; Yoshida A; López-Millán AF; Grusak MA; Kachroo P. (2013) The Plant Vascular System: Evolution, Development and Functions. **Journal of Integrative Plant Biology** 55 (4): 294–388.

Overvoorde P; Fukaki H; Beeckman T (2010) Auxin Control of Root Development. **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2:a001537.

Aichinger E; Kornet N; Friedrich T; Laux T. (2012) Plant Stem Cell Niches. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.** 63:615-636.



Anotações:



Espectros Específicos de Luz e Respostas Mediadas pelo Fitocromo

Ricardo Ernesto Bianchetti

Em organismos sésseis, como as plantas, a alta sensibilidade a fatores ambientais, entre eles da luz, é extremamente importante para a promoção do crescimento e desenvolvimento. A resposta a sinais luminosos controla até 20% dos genes vegetais, portanto não é surpresa que as plantas desenvolveram fotorreceptores que não percebem apenas a presença ou ausência de luz, mas também o tempo de exposição à luz, a intensidade luminosa recebida e o comprimento de onda. Vários receptores como os criptocromos, fototropinas e fitocromos já foram identificados e já estabelecidos os comprimentos de onda ideais que serão percebidos e desencadearão determinadas respostas a nível celular, resultando em mudanças fisiológicas que permitem adaptação ao ambiente.

Propriedades da luz e o fitocromo

A luz pode ser definida como radiação eletromagnética, tendo propriedades ondulatórias e de partícula. A luz é propagada por ondas em diferentes comprimentos, que contém propriedades elétricas e magnéticas, sendo capaz de viajar em meio sólido, líquido, gasoso ou no vácuo. A luz possui propriedades ondulatórias. O comprimento de onda é a distância entre sucessivos pontos, calculadas como o comprimento entre dois sucessivos picos de onda. A unidade de medida comumente utilizada para o comprimento de onda é o nanometro ($1 \text{ nm} = 10^{-9}$). Além do comprimento de onda, também podemos caracterizar a luz conforme a frequência de oscilação, que corresponde a quantidade de ondas que passa por determinado ponto em determinada fração de tempo. A frequência (ν) é inversamente proporcional ao comprimento de onda (λ) e diretamente proporcional à velocidade da luz (v), como mostrado na equação 1. A velocidade da luz nesse caso é o valor subtraído da constante de aproximadamente 300 mil Km/s (que corresponde à velocidade da luz no vácuo) de acordo com o meio em que a luz está se propagando.

$$\lambda \nu = v \quad (\text{Eq. 1})$$

Além das propriedades ondulatórias, a luz também exhibe propriedades de partícula, contendo efeito fotoelétrico. As partículas podem ser divididas e organizadas como fótons, o fóton possui determinada quantidade de energia por mol (E), que está relacionado ao comprimento de onda e à frequência, conforme mostrado na equação 2.

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde h é a constante de Planck = $6,6 \times 10^{-34}$ J/s.

As regiões do comprimento de onda são divididas na região do ultravioleta até o infravermelho (**Tabela 1**), sendo esses comprimentos o de maior interesse para sistemas biológicos, sobretudo para plantas que possuem receptores e pigmentos que absorvem luz de comprimentos específicos e a partir disso recebe energia suficiente para movimentar um elétron de um estado padrão para um estado excitado. Portanto, a energia absorvida do fóton é a diferença de energia da molécula em seu estado excitado e a molécula no estado padrão.



Tabela 1. Definição e caracterização dos comprimentos de onda da luz.

Cor	Comprimento de onda (nm)	Comprimento representativo (nm)	Frequência (ciclos/s)	Energia (Kj/mol)
Ultravioleta	< 400	254	11.80×10^{14}	471
Violeta	400-425	410	7.31×10^{14}	292
Azul	425-490	460	6.52×10^{14}	260
Verde	490-560	520	5.77×10^{14}	230
Amarelo	560-585	570	5.26×10^{14}	210
Laranja	585-640	620	4.84×10^{14}	193
Vermelho	640-740	680	4.41×10^{14}	176
Infravermelho	>740	1400	2.41×10^{14}	85

As características dos comprimentos de onda da tabela 1 são importantes para os diversos fotorreceptores existentes nas plantas, onde as moléculas possuem regiões específicas que são capaz de absorver quantidades específicas de kJ/mol, que são proveniente de comprimentos de ondas específicos da luz.

Entre os fotorreceptores, merece destaque um fotorreceptor que é capaz de absorver na região do vermelho (ver tabela 1 para dados mais completos). A ideia de sua existência foi proposta na década de 30, com experimentos pioneiros de Flint e McAlister que mostraram que sementes de alface (*Lactuca sativa*) apresentaram alta germinação ao serem irradiadas com luz vermelha e que a germinação era inibida com luz vermelho-extremo. Na década de 50, estudos com o espectro de absorção e espectro de ação de vários fenômenos puderam elucidar melhor a presença de um fotorreceptor e os comprimentos de onda em que havia uma maior absorção, mostrando que um único pigmento que absorve na região do vermelho, é responsável não apenas pela germinação de sementes fotoblásticas, mas por um leque de respostas fisiológicas nas plantas. Porém, o mais impressionante não foi a descoberta de um espectro específico para o pigmento, mas a visualização nos espectros que um pico de absorção na luz vermelho-extremo era capaz de reverter as respostas obtidas pela radiação vermelha. Nesse contexto duas hipóteses haviam se tornado viáveis: a presença de dois receptores com ações antagonicas ou a presença de um único receptor com fotorreversibilidade, evento esse que jamais havia sido descrito em sistemas biológicos. Anos depois foi possível fazer o isolamento do pigmento e as propriedades de fotorreversibilidade foram demonstradas *in vitro*, mostrando que ele absorvia na região do vermelho e inibia a própria ação quando absorvia na região do vermelho-extremo. O pigmento foi identificado como fitocromo, que podia existir em duas formas – Fv que absorvia em luz vermelha, com pico de 660 nm ou Fve, que absorvia em luz vermelho-extremo, com pico de 730 nm.

O descobrimento da existência do fitocromo só foi possível ao comparar os espectros de absorção e ação, identificando qual comprimento de onda fornecia a energia necessária para ativar este pigmento. O espectro eletromagnético estende-se de comprimentos de onda muito baixos até comprimentos extremamente altos. Apesar de em plantas haver a absorção na região do ultravioleta, o fitocromo, assim como outros pigmentos, absorve na região do visível, pois requer comprimentos com menor energia, tendo a excitação do elétron $\pi \rightarrow \pi^*$, que por estar mais longe do núcleo atômico, requer quantidade de energia menor para chegar ao seu estado excitado. Quando um átomo qualquer absorve energia de determinado comprimento de onda, não existirá uma mudança na posição de seu núcleo durante a excitação do elétron, mas sim um aumento de energia que deixará o elétron em um estado excitado. Para átomos distintos, a absorção de um fóton de energia (levando em consideração que cada elétron pode absorver apenas um fóton por vez) pode ser medida por uma linha nítida no espectro de absorção pelo comprimento de onda (Equação 2). O espectro de absorção de uma molécula pode ser definido com um gráfico de absorbância que dará uma ideia clara, porém não inequívoca dos possíveis constituintes da molécula que tem seu pico de absorção em determinado comprimento de onda. No caso do fitocromo, foi constatado maior absorção nos comprimentos de 660 nm e 730 nm (**Figura 1**).

Portanto, o espectro de absorção da figura 1 determinou o comprimento de onda em que a molécula absorve. Para essa determinação é necessário a aplicação da Lei de Beer (Equação 3), em que a medida de absorção deve se levar em consideração o coeficiente de absorção (ξ), o caminho óptico que a luz percorreu (b) e obviamente a concentração de moléculas presente na amostra (c).

$$A = \xi b c \text{ (Eq. 3)}$$



Para a determinação do fitocromo, no entanto, foi necessário mais do que a aplicação da Lei de Beer (equação 3), pois o termo “b” que constitui o caminho óptico, deve-se também levar em consideração que amostra extraídas de vegetais são densas, portanto de fácil dispersão do feixe luminoso. Para medir a absorbância do fitocromo, foi necessário a irradiação de comprimento de ondas duplos (660 nm e 730 nm que correspondem aos picos de absorção do pigmento), e que mostra que o mesmo pigmento tem esses dois picos de absorção. Subtraindo um valor do outro, se conhecerá a eliminação da dispersão que o caminho óptico pode causar. Obviamente, a técnica de duplo feixe também dobra os valores encontrados: devido ao efeito de fotoconversão do fitocromo a magnitude da leitura será o dobro da quantidade real de fitocromo.

Outro parâmetro que foi comparado com o espectro de absorção e possibilitou perceber as respostas em que o fitocromo está envolvido é o espectro de ação. O espectro de ação do fitocromo é determinado por alguma resposta biológica em comparação com o comprimento de onda absorvido pelo fitocromo (**Figura 2**). Caso o pigmento esteja atuando sozinho, a comparação do espectro de ação com o espectro de absorção permitiu associar os comprimentos de onda absorvidos pelo fitocromo e o efeito de cada um deles na promoção ou inibição de determinadas respostas fisiológicas.

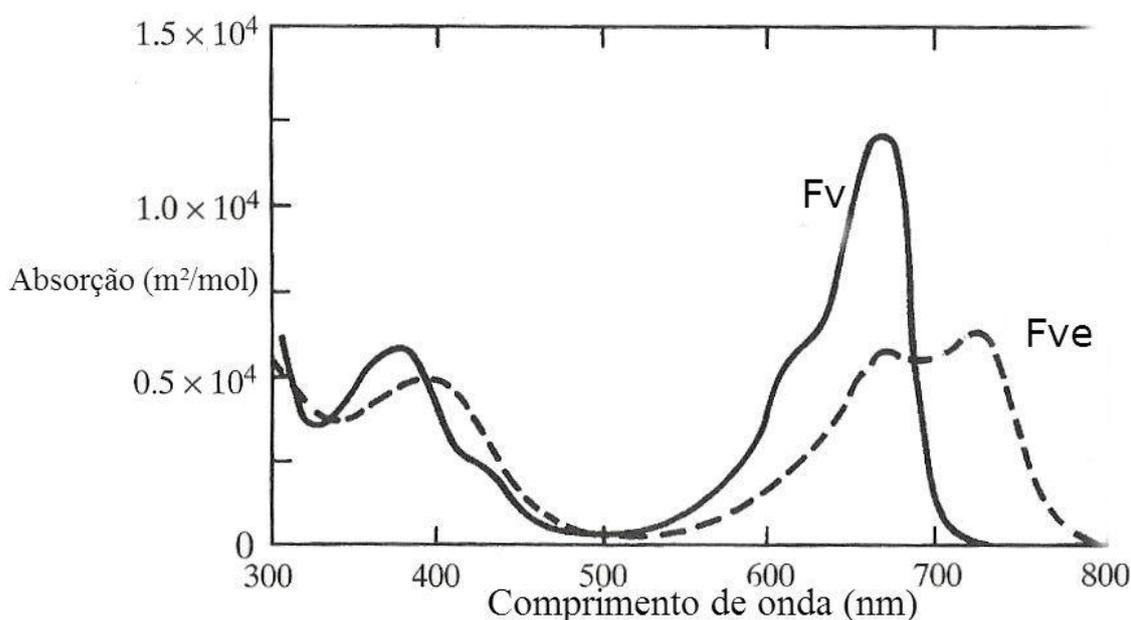


Figura 1. Espectro de absorção do fitocromo em sua forma ativa (Pr) ou inativa (Pfr).

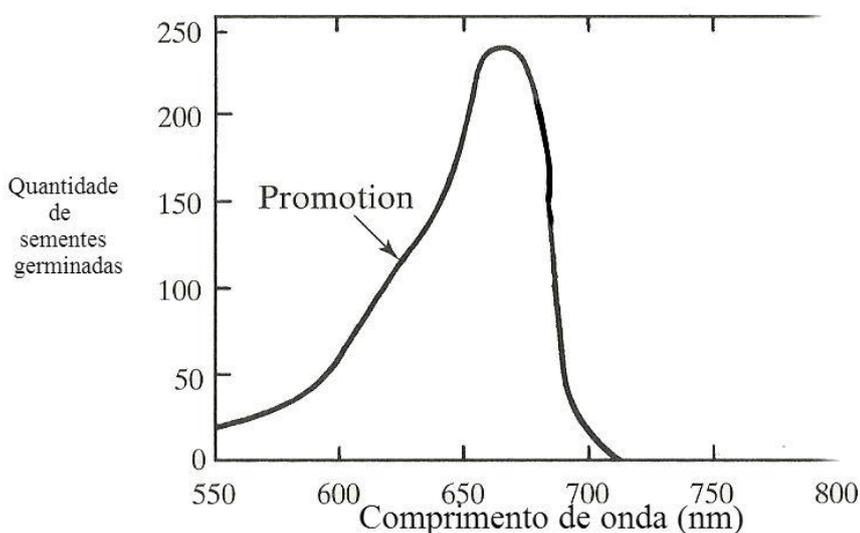




Figura 2. Espectro de ação do fitocromo para germinação de Sementes fotoblásticas positivas.

Fitocromo: Propriedades e estrutura

Atualmente é constatada a existência do fitocromo em todas as plantas, que apesar de ser um pigmento conservado entre os vegetais (tendo até registro de moléculas similares com o mesmo espectro de absorção em cianobactérias) apresenta algumas diversificações durante a evolução, como no espectro de absorção e nas respostas fisiológicas.

Entre as angiospermas a estrutura básica do fitocromo é a mesma: um cromóforo tetrapirrol, responsável pela absorção da luz que é ligado a uma apoproteína, que fará as modificações celulares e/ou genéticas após perceber a modificação do cromóforo. O cromóforo e a apoproteína tem a capacidade de se juntarem de forma espontânea quando em contato, portanto a síntese em locais diferentes da célula não é uma barreira para a formação do fitocromo. Uma das propriedades que mais chama a atenção é a capacidade da fotoconversão do fitocromo. No escuro as células sintetizam o fitocromo de coloração azul, em sua forma inativa que absorve no espectro 660 nm (Fv) (**Figura 3**), essa é a forma estável da molécula que quando absorve a luz vermelha tem alterações no cromóforo e passa para a forma azul-esverdeada (Fve) (**Figura 4**), que por sua vez é responsável pelas respostas desencadeadas. Essa forma é instável e volta espontaneamente para sua forma estável Fv (inativa) quando permanece uma fração de tempo no escuro. O retorno rápido da forma Fve para Fv ocorre quando recebe luz vermelho-extremo (**Figuras 3 e 4**).

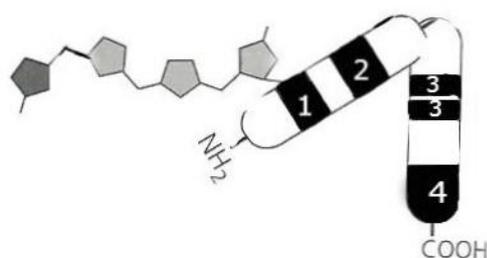


Figura 3. Esquema ilustrativo da estrutura do fitocromo em forma inativa (Fv). 1 = Domínio GAF; 2= Domínio PHY; 3= Domínio PAS; 4 = Domínio KIN.

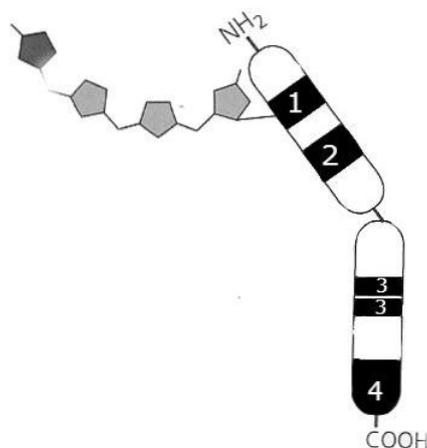


Figura 4. Esquema ilustrativo da estrutura do fitocromo em forma ativa (Fve). 1 = Domínio GAF; 2= Domínio PHY; 3= Domínio PAS; 4 = Domínio KIN.



Apesar do espectro de absorção das duas formas do fitocromo serem bem definidos, em condições iluminadas é praticamente impossível encontrar apenas Fv ou Fve. Isso porque, apesar da absorção do Fve ser no vermelho-extremo, o espectro de absorção das duas formas se sobrepõe bastante em determinada região do vermelho, existindo interconversão contínua de Fve em Fv e de Fv em Fve mesmo quando irradiado com luz vermelha, resultando em um equilíbrio fotoestacionário entre as duas formas da molécula. A atividade do fitocromo é mostrada na equação 4, em que ϕ é igual a porcentagem de fitocromo ativo e F corresponde a quantidade total de fitocromo.

$$Fve/F = \phi, (\text{Eq. 4})$$

Ao receber o pulso de luz vermelha, é esperada uma faixa de 85% de Fve. Por outro lado, o vermelho-extremo deixa apenas 3% do fitocromo na forma Fve.

A resposta fisiológica dependerá do valor de ϕ em determinado comprimento de onda, onde se constatará se a quantidade de Fve será suficiente para a resposta esperada.

Após receber a luz vermelha o fitocromo passará por uma conversão da forma Fv para a Fve, em que vários estágios ocorrem até que o cromóforo chegue à forma ativa (**Figuras 5 e 6**), que podem ser encontrados em maior quantidade em espectros que favorecem o estado fotoestacionário. A conversão de Fv para Fve tem a necessidade da presença de água para ocorrer.

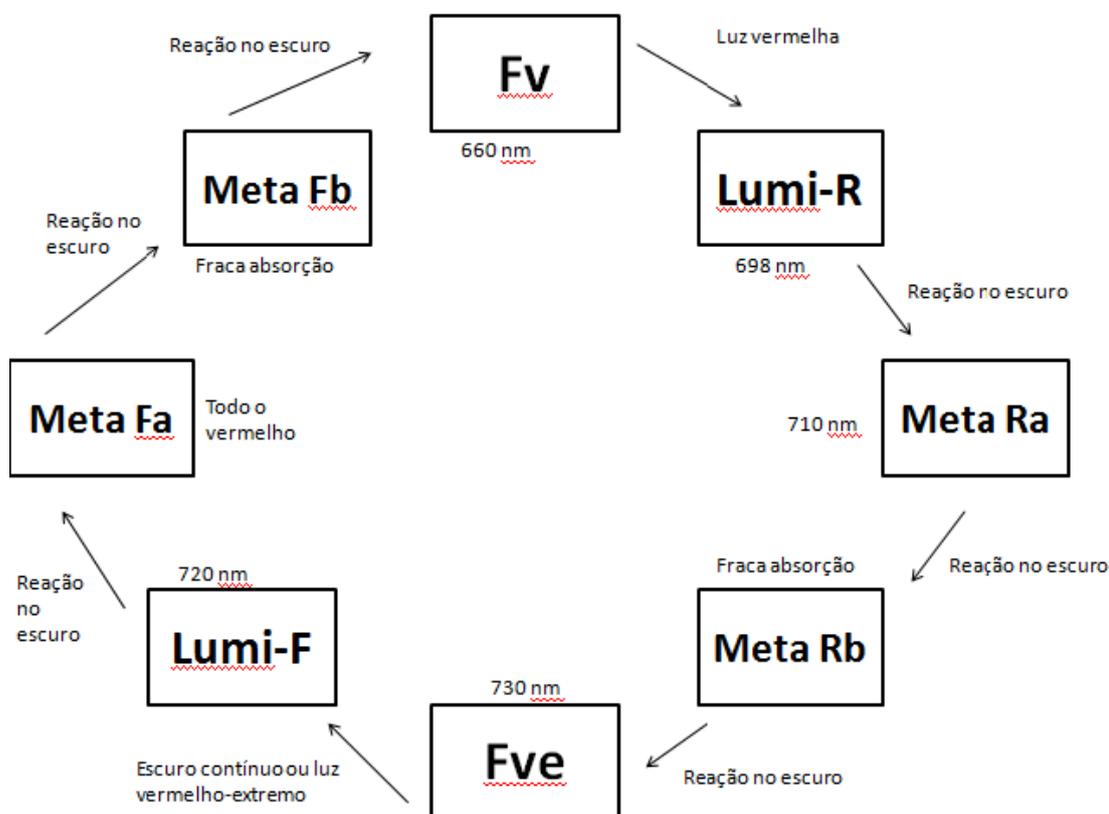


Figura 5. Esquema mostrando os intermediários do cromóforo durante a fotoconversão do fitocromo. Fora do ciclo é mostrado a necessidade ou não de luz para reação ocorrer e dentro do ciclo é mostrado o comprimento de onda (nm) em que ocorre o pico de absorção em cada intermediário.

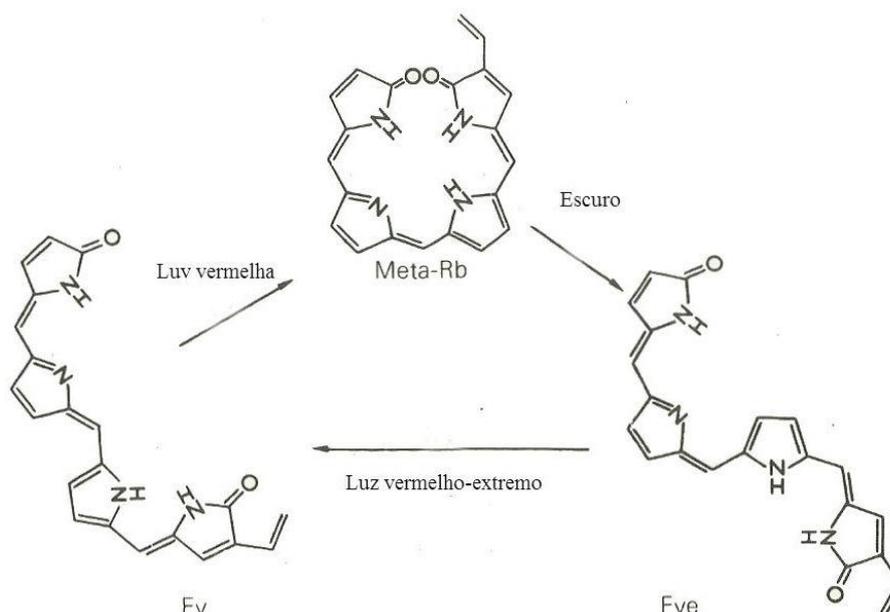


Figura 6. Estrutura química do cromóforo de Fv e Fve e na forma intermediária Meta-Rb.

Após ser irradiado pela luz vermelha, quando em presença de escuro contínuo, dependendo da espécie vegetal, o Fve pode ser destruído ou convertido à forma Fv.

Apesar das características do fitocromo em absorver em radiação vermelha e ter o efeito de reversibilidade na região do vermelho-extremo, não é apenas o comprimento de onda que distinguirá a resposta mediada pelo fitocromo, mas também a fluência que ele recebe quando submetido à luz vermelha. A fluência é determinada pela quantidade de $\mu\text{mol}/\text{m}^2$. As diferentes respostas do fitocromo estão relacionadas à absorção de luz no espectro vermelho/vermelho-extremo e na quantidade de luz que chega até a molécula, em determinadas respostas o efeito de fotoconversão não impossibilitará a resposta.

O quadro 1 mostra os três diferentes tipos de resposta associado à fluência de luz vermelha percebido pelo fitocromo.

Quadro 1. Respostas associadas à fluência de luz percebida pelo fitocromo

Tipo de resposta	Fluência	Fotorreversibilidade	Quantidade da forma ativa necessária para desencadear a resposta
Very Low fluence	0,001–0,1 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$	Não	Fve 0,02% <que 3% no vermelho extremo
Low fluence	1-1000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$	Sim	Fve aproximadamente 80%
High irradiance	Luz contínua e irradiância alta até saturação	Não	Fotoequilíbrio entre Fv-Fve

As respostas em Low fluence e Very Low fluence são dependentes da qualidade da luz e da quantidade de fluência recebida, portanto nesse segundo parâmetro dois fatores são extremamente importantes para ativar a resposta do fitocromo, conforme mostrado na equação 5.

$$\text{Fve} = t.f \quad (\text{Eq. 5})$$

Fve = fitocromo na forma ativa; t = tempo; f = fluência

Portanto a resposta é desencadeada pelo produto da fluência aplicada e o tempo em que a célula vegetal é submetida ao tratamento luminoso, esse produto é chamado de lei da reciprocidade, qualquer um dos fatores pode ser aumentado contanto que o outro seja reduzido, já respostas de High irradiance não podem ser desencadeadas pela luz fraca contínua e nem pela luz forte em pouco tempo, portanto não obedece a lei da reciprocidade.



Controlando um leque de respostas fisiológicas e com tipos de respostas diferentes, não foi surpresa a descoberta que o fitocromo não se tratava de apenas uma molécula, mas era codificado por uma família multigênica, alterando a constituição da apoproteína, capaz de ativar determinados tipos de respostas e de desencadear específicos eventos fisiológicos. Foram determinados em *Arabidopsis thaliana* cinco tipos de fitocromo, divididos em duas classes: fitocromo Tipo I e Tipo II.

O fitocromo do tipo I é identificado como fitocromo A (phyA), capaz de responder em Very-Low fluence e High irradiance, ou seja, não apresenta o efeito da fotorreversibilidade e são facilmente degradados após perceberem a luz. Por essa razão são facilmente encontrados em tecidos estiolados.

Os fitocromos do tipo II são divididos em fitocromo C (phyC), D (phyD) e E (phyE) e o fitocromo tipo B (phyB) que juntamente ao phyA é o mais estudado. Os fitocromos do tipo II são fotoestáveis, tendo sua forma Fve estabilizada em presença de luz e não são facilmente degradados. O phyB responde à luz vermelha, sofrendo a clássica fotoconversão quando exposta ao vermelho-extremo e regula preferencialmente as respostas Low fluence, como a germinação de sementes de certas espécies fotoblásticas, o alongamento do hipocótilo e o florescimento de plantas fotoperiódicas. Contudo também foi constatado que phyB é capaz de ter respostas High irradiance. Mutantes para esse tipo de fitocromo não são capazes de responder à luz vermelha em fluências entre 1-1000 $\mu\text{moles/m}^2$.

Os fitocromos C, D e E correspondem a formas menos predominantes em plantas e por isso chamam pouca atenção em trabalhos. É constatado que esses tipos de fitocromo interagem com phyA e phyB, respondendo preferencialmente em Low fluence.

A temperatura é outro fator que pode influenciar dependendo do tipo de fitocromo. Relatos recentes tem mostrado que, além da presença de luz, existe uma faixa de temperatura ideal para que cada um dos tipos de fitocromo chegue em sua resposta máxima. Enquanto phyB e phyD tem mostrado melhor resposta em temperaturas mais altas, em torno de 22°C, phyE tem sua resposta otimizada quando exposto em temperaturas menores que 20°C. Já phyA não apresenta distinção de resposta conforme variação na temperatura.

Estrutura e função do fitocromo já são consagradas, porém o fitocromo sofre variações em suas respostas dependendo da espécie. Apesar do modo de ação dos diferentes fitocromos ser altamente conservado, as respostas fisiológicas podem ser alteradas dependendo da espécie estudada. Outra variação é também a diferença numérica entre os diferentes tipos: em monocotiledôneas são identificados apenas três tipos de fitocromo, sendo que o phyA e phyB exercem as funções mais conhecidas.

Todos os tipos de fitocromo são compostos por cromóforo e apoproteína. O cromóforo, responsável pela absorção no espectro do vermelho é conservado sem modificações. Comprovando isso, mutantes no gene *aurea*, incapazes de sintetizar o cromóforo, se mostram ineficientes em respostas para todos os tipos de fitocromos. A formação do cromóforo é independente da formação da apoproteína: o fitocromo segue vias de formação independentes. O cromóforo (**Figura 7**) é formado por quatro anéis de quatro carbonos e uma molécula de nitrogênio, cada um desses anéis contém duplas ligações entre os carbonos.

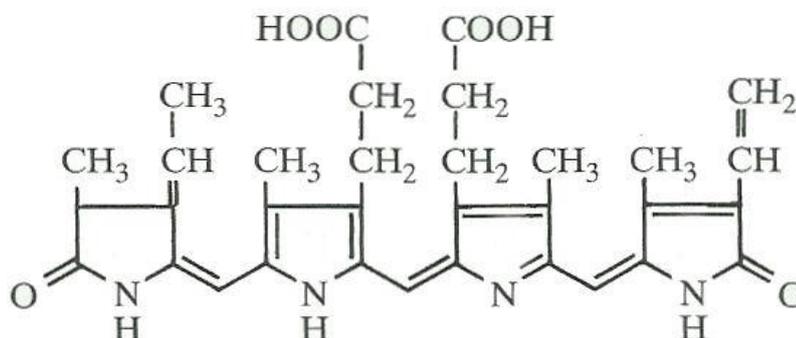


Figura 7. Estrutura química detalhada do cromóforo em Fve.

As regiões do cromóforo responsáveis pela absorção da luz se encontram entre o terceiro e quarto anéis, e são os responsáveis pelas modificações químicas (**Figura 5**) que resultarão na resposta fisiológica mediada por fitocromo. Quando em sua forma ativa, o cromóforo é altamente conjugado, com nove duplas ligações.



Tratamentos com gabaculina ou mutantes *aurea* provam a importância do cromóforo na absorção da luz. O primeiro impede a planta de produzir a molécula, enquanto o segundo é mutante para as proteínas responsáveis por formar o cromóforo.

O cromóforo em sua forma inativa tem inicialmente o ácido 5- aminolevulínico como um dos principais precursores para sua formação, gerando após série de reações enzimáticas uma biliverdina, que posteriormente gerará a fitocromobilina, com estrutura do cromóforo.

Após formado o cromóforo, seu primeiro anel se liga à uma cisteína no domínio GAF da apoproteína através de uma ligação tioeter que é feita em uma ligação com o grupo etilideno existente no carbono 3 deste anel, formando assim o fitocromo que poderá desencadear respostas em nível celular após receber a luz vermelha. Em moléculas similares ao fitocromo em cianobactérias o domínio de ligação é diferente, sendo provavelmente uma característica ancestral àquela visualizada nas plantas. Depois de feita a ligação com a apoproteína, o cromóforo permanece em forma linear, tornando possível a isomerização da molécula que fará as interações com a apoproteína ao perceber o sinal luminoso.

As apoproteínas, ao contrário do cromóforo, apresentam variações estruturais dependentes do tipo de fitocromo. Apesar das variações, a estrutura básica da apoproteína permanece a mesma (**Figuras 3 e 4**), dividida na região N-terminal sensorial e na região C-terminal transmissora de respostas. O fitocromo é uma proteína quinase regulada pela luz. Na região N-terminal existe o domínio GAF que tem a ligação com uma cisteína, possibilitando a ligação com o cromóforo. A parte N-terminal da molécula é responsável por perceber a mudança no cromóforo após a percepção da luz vermelha. Também é presente nessa parte da proteína o domínio PHY que será responsável pela estabilização da molécula do fitocromo em Fve, dando o tempo necessário para que as respostas fisiológicas sejam ativadas. A apoproteína detém uma região articulada que separa o domínio N-terminal do domínio C-terminal, sendo que neste existe um duplo domínio PAS, que medeia a dimerização do fitocromo e as relações com as proteínas efetoras *downstream*. Nessa região do domínio PAS existe a sequência de aminoácidos responsáveis por direcionar a forma ativa do fitocromo até o núcleo, onde ocorrerão as respostas gênicas. Já o domínio C-terminal é responsável pelas propriedades quinase do fitocromo, que é capaz de fazer autofosforilação e possibilitar respostas a nível celular e molecular.

O fitocromo pode ser detectado em tecidos vegetais. Quando analisado nas plantas, existe maior concentração dessa molécula em regiões de crescimento. Associação dos promotores de *phyA* e *phyB* com o gene repórter GUS permitiu visualizar que o fitocromo é transcrito em praticamente todos os tecidos vegetais, mas submetido ao estágio de desenvolvimento da planta que controla se os genes serão ou não expressos. Uma vez que os tecidos se tornam competentes, a luz é o sinal ambiental que permitirá a ativação da molécula. Em nível celular, o fitocromo pode ser encontrado em grandes concentrações no citosol e parcialmente difundido no núcleo em períodos de escuro. Porém, após absorver luz no espectro do vermelho, é visualizada uma grande concentração de fitocromo no núcleo e pouca no citosol. Por esse motivo, a fotoconversão com o vermelho-extremo é mais eficiente na região do núcleo, isso se deve ao transporte do fitocromo para fazer a ativação de genes regulados pela luz. *PhyA*, no entanto, tem um transporte mais rápido do que *phyB* para o núcleo, uma vez que tem um sistema de transporte mais eficiente: não possuem localização nuclear de sinais (região responsável por guiar o fitocromo em direção ao núcleo) presente na região C-terminal como em *phyB*, portanto para exportação ao núcleo, *phyA* requer duas proteínas: FAR RED ELONGATED HYPOCOTYL 1 (FHY1) e sua homóloga FHL, que interagem com *phyA* e fazem o transporte do fitocromo.

Respostas mediadas pelo fitocromo

A influência de sinais luminosos no fitocromo se manifesta preferencialmente no crescimento. Como já visto, ele tem as propriedades de reversibilidade se for iluminado pelo vermelho-extremo, após receber a luz vermelha.

No entanto, se houver um período longo entre a aplicação da luz vermelha e vermelho-extremo, apesar da conversão de Fve em Fv, a resposta fisiológica desencadeada ocorrerá da mesma forma. Esta capacidade é definida como o tempo de escape e determina o tempo necessário para que o fitocromo consiga fazer a indução da resposta a nível molecular. Uma vez induzida, a resposta se tornará um processo irreversível e nem a conversão para forma Fv conseguirá reprimi-la. O período de atraso (*lag time*) é a quantidade de tempo necessário para que a reação seja irreversível após a iluminação com a luz vermelha. O *lag time* é variável de acordo com a espécie e com a resposta fisiológica, podendo se estender de minutos até dias, sendo importante para elucidar as vias moleculares e bioquímicas para que determinada resposta aconteça. Normalmente para resultar na resposta fisiológica induzida pela luz vermelha, o fitocromo pode agir por duas formas: regular potencial de membrana ou a transcrição gênica.

Algumas respostas mediadas por fitocromo tem um *lag time* extremamente curto, ao ponto de ser inviável que promova a transcrição de novos genes e a síntese *de novo* de proteínas. Frente a isso é proposto que existe um modo de ação mais rápido, sendo que mudanças no potencial de membrana podem ser responsáveis por tais respostas. Essas respostas desencadeadas diretamente pelo fitocromo são relacionadas à sua capacidade de ativar H^+ -ATPase, responsável pela extrusão de íons H^+ para fora da célula e despolarização da membrana, alterando seu potencial eletroquímico e



permitindo que íons K^+ entrem na célula, resultando nas alterações no volume celular esperadas. Como o fitocromo é uma proteína hidrofílica e não tem a capacidade de se associar a membranas plasmáticas, é proposto que ele age ativando a H^+ -ATPase através de um mensageiro secundário. Íons Ca^{2+} são amplamente aceitos como mensageiros.

Os mecanismos que o fitocromo usa para regulação genética ainda permanecem pouco esclarecidos. Após a iluminação com pulso de luz vermelha (phyB) ou alta irradiância no balanço vermelho/vermelho-extremo, é constatada uma migração de moléculas de fitocromo para o núcleo, o que sugere que eles fazem regulação genética. Porém, estudos tem mostrado que a via de ativação de genes pelo fitocromo pode ser diretamente ou, na maioria das vezes, indiretamente, através da utilização de pequenas proteínas que são localizadas no núcleo, denominados fatores de interação com o fitocromo (PIF). As PIF podem interagir independentemente com phyA e phyB ou podem se relacionar com um fitocromo específico: phyA ou phyB. É apontado que a ativação dessas proteínas está relacionada com a propriedade quinase presente no fitocromo, feita através do domínio PAS na região C-terminal da apoproteína. A fosforilação de determinados tipos de PIF fará a ligação de promotores específicos de genes que serão transcritos em resposta ao sinal luminoso, como genes HY5 que são controlados pelo fitocromo. A interação de phyA ou phyB com PIF também pode fazer a repressão de genes que já estão ativos. O criptocromo (receptor de luz azul) também pode ser fosforilado através da ativação de phyA. Alguns estudos tem apontado também que o fitocromo, além de regular síntese de proteínas ao nível de transcrição, também pode regular processos genéticos em nível de tradução de proteínas. Algumas proteínas citoplasmáticas também podem ser reguladas pelo fitocromo através de fosforilação, desencadeando a resposta em nível genético. Algumas dessas proteínas já foram identificadas, como a substrato 1 da quinase do fitocromo (PKS1), que parece estar associado ao phyA em respostas Very Low Fluence.

A luz regula uma gama de respostas que podem afetar as plantas desde sua fase juvenil até a fase adulta. Apesar de ser um sinalizador eficiente, é necessária a existência de mecanismos reguladores negativos de respostas luminosas, para que não exista uma resposta contínua e a sinalização luminosa perca o sentido. Conforme esperado, em *Arabidopsis thaliana*, foram isolados genes que reprimem resposta de sinais luminosos. Seus mutantes aparecem com superexpressão à respostas luminosas, como o hipocótilo extremamente reduzido, coloração verde forte devido ao acúmulo de clorofilas, floração mais rápida e altos níveis de antocianina. Duas proteínas distintas são consagradas como reguladoras negativas do sinal luminoso: UV DAMAGE DNA BINDING 1 (DDB1) e DETIOLATED (DET), ambas proteínas que interagem geneticamente e bioquimicamente para fazer a regulação negativa de respostas medidas pela luz, através da marcação por ubiquitinação e posterior degradação das proteínas responsivas à luz no proteossomo. Também foram descobertos transcritos de outros dois reguladores negativos da transdução de sinais luminosos: CULLIN 4 (CUL4) e CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS (COP1). COP1 interage bioquimicamente com DDB. É uma ubiquitina ligase E3, capaz de acrescentar pequenos peptídeos, chamados de ubiquitina nas proteínas reguladas positivamente pela luz, para que estas sejam degradadas no proteossomo. Em presença de luz, COP1 é exportada para o núcleo celular, onde é um grande atenuador de respostas mediadas por phyA, justificando a rápida degradação desse tipo de fitocromo. Esse complexo protéico também é responsável pela degradação de phyB. COP1, no entanto não é responsável pela destruição de PIF, o que mostra que a regulação de sinais luminosos acontece por diversas vias dentro das células vegetais.

O fitocromo é capaz de controlar vários processos importantes para as plantas: desde a germinação até a passagem para a fase adulta reprodutiva. Algumas funções do fitocromo serão brevemente descritas:

Germinação de sementes

Experimentos clássicos que permitiram a descoberta do fitocromo foram feitos com base em sementes que germinavam após receber um pulso de luz vermelha. O efeito da germinação era inibido quando as sementes recebiam luz vermelho-extremo logo em seguida ao tratamento com a luz vermelha. A luz geralmente é necessária para sementes pequenas, com pouco material de reserva, em que a plântula morreria caso germinasse em condições luminosas desfavoráveis. A luz é um sinal que a germinação pode ocorrer e a plântula conseguirá realizar a fotossíntese rapidamente, portanto as sementes fotoblásticas apenas germinam se ϕ for alto. A germinação de sementes fotoblásticas responde em Low fluence, mas existem espécies também capazes de responder em Very low fluence. Esse efeito é encontrado em plantas regeneradoras de ecossistema e algumas plantas daninhas. Após receber a luz vermelha, Fve permite que a giberelina, hormônio necessário na germinação, possa atuar quebrando carboidratos de reserva e permitindo a germinação.

Desestiolamento de plântulas

Um dos efeitos mais consagrados do fitocromo, que atua associado à citocininas, é o desestiolamento de plântulas recém germinadas. Plântulas estioladas apresentam coloração amarelada, hipocótilo alto e curvado formando um gancho. Essas características desaparecem após receber luz vermelha, fazendo o hipocótilo ter redução na taxa de crescimento, transformando cotilédones em folhas, aumentando a quantidade de clorofilas e desfazendo o gancho. A transição da



plântula de condição heterotrófica para condição autotrófica é controlada pela luz. No início do crescimento das plântulas é constatado que phyA e phyB tem comportamentos antagônicos, afim de melhor controle para a planta das condições ambientais. A estimulação do desestiolamento por phyB está associada a respostas Low fluence e depende da razão Fve/Fv. Já o desestiolamento mediado por phyA dependerá de respostas em High irradiance e do estado estacionário em que o fitocromo se encontra, ocorrendo a resposta quando Fve e Fv se encontram em fotoequilíbrio. Em ambientes abertos o desestiolamento é mediado preferencialmente por phyB, já quando a plântula se encontra em ambiente sombreado por dossel, onde é enriquecido com luz vermelho-extremo o desestiolamento inicialmente é mediado por phyA, após a degradação de phyA, phyB passa a assumir o controle do crescimento da plântula, permitindo que alcance rapidamente à luz, competindo com outras plantas ao redor.

Síntese de pigmentos

A influência do fitocromo na produção de pigmentos como clorofila, antocianinas e carotenóides é bem conhecida. No período de desestiolamento, a planta necessita de luz para iniciar a produção de clorofilas, sendo que o fitocromo é um dos responsáveis por fazer a síntese de proteínas que culminará na produção de clorofila e também na montagem do fotossistema II. Mutantes que superexpressam phyA apresentam aumento na intensidade da coloração verde tanto em folhas quanto em frutos antes da maturação. O acúmulo de carotenóides também pode ser mediado pela ação do fitocromo, constatado em estudos pioneiros em frutos climatéricos onde a luz vermelha é capaz de dobrar o conteúdo de carotenóides em frutos de tomate e a luz vermelho-extremo é capaz de reverter este efeito. Mutantes para a síntese do cromóforo também demonstram uma redução expressiva no nível de antocianinas.

Alongamento de plantas de sol

O fitocromo possibilita que as plantas percebam o sombreadamento por outras plantas através da medição do valor de ϕ . A diminuição desse valor é devido a maior proporção de luz no vermelho-extremo em ambientes sombreados. Para as plantas de sol, essa percepção permite fazer maior investimento dos recursos em crescimento, aumentando a taxa de extensão do caule. Essa resposta não é característica para plantas de sombra: elas mostram menor redução do crescimento do caule, quando expostas valores de ϕ altos. Entre os tipos de fitocromo existentes, o phyB é o que detém a maior quantidade de respostas de alongamento das plantas de sol na sombra, sendo auxiliado pelo phyD e phyE. Evitar a sombra é extremamente útil para plantas em ambientes selvagens, no entanto, para interesse agrônomico, essa resposta é desvantajosa, pois o investimento em altura retira um possível investimento na produção de frutos e sementes. Por essa razão, várias linhagens de plantas que superexpressam phyA (detém resposta antagônica a phyB neste evento fisiológico) vem sendo feitas, na tentativa de reduzir a resposta de evitar sombra.

Percepção do ritmo circadiano

Várias das funções das plantas são controladas com uma periodicidade regular, oscilando de acordo com o comprimento do dia. Esses eventos são chamados de ritmo circadiano, em que mesmo retirado desse ritmo de 24 horas (alteração na proporção claro/escuro) o ritmo persiste por um período curto, sugerindo que seja controlado por um regulador endógeno. Esse regulador, denominado oscilador endógeno tem a capacidade de regular uma variedade de processos que não são afetados pela temperatura, e que hoje correspondem em média 6% dos genes de *Arabidopsis thaliana*. Genes regulatórios de todos esses eventos fisiológicos que tem 24 horas de duração já foram detectados em vários tipos de seres vivos. Em *Arabidopsis thaliana* foram identificados três genes que agem em retroalimentação positiva e/ou negativa, fazendo a regulação desses eventos dependendo do sinal luminoso (**Figura 8**). Os genes são denominados TOC1, LHY e CCA1, sendo que os produtos desses genes são proteínas regulatórias do ritmo circadiano. Ao amanhecer, a luz ativa os genes LHY e CCA1 que ativam a expressão de genes matutinos. Porém, para a ativação desses dois genes, também é necessário níveis altos de TOC1, que é um regulador positivo de ambos. LHY e CCA1, no entanto, fazem a repressão de TOC1. Portanto, conforme os genes TOC1 vão sendo reprimidos, LHY e CCA1, que dependem desses genes para terem sua transcrição, também são diminuídos, causando aumento da expressão de TOC1, uma vez que ele estará livre da repressão causada pelos dois genes matutinos. A expressão de TOC1, portanto, começa ao fim da tarde e vai aumentando durante o período noturno, fazendo também a transcrição de genes do entardecer.

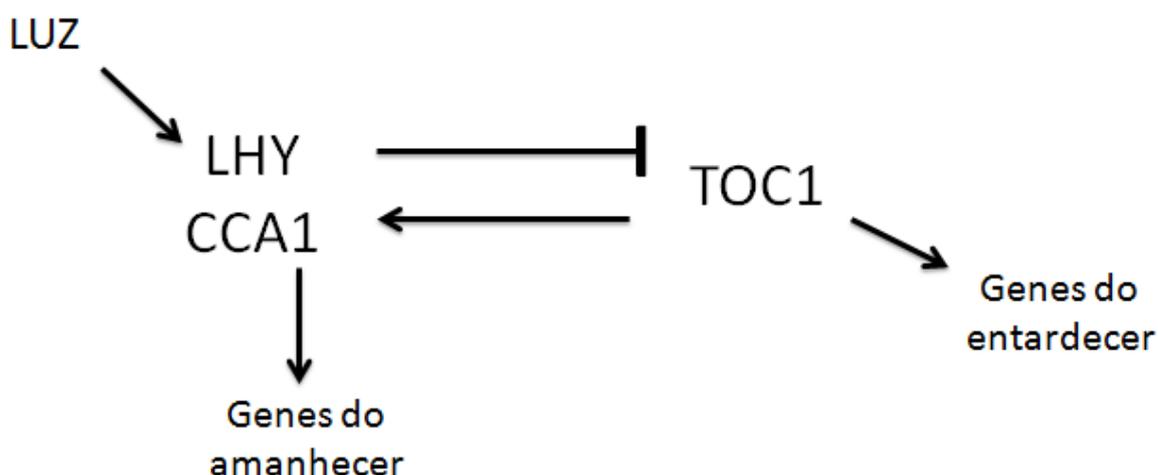


Figura 8. Modelo do oscilador circadiano, mostrando as interações dos genes TOC1 e dos genes LHY e CCA1.

Início da Manhã: luz atua regulando positivamente LHY e CCA1 que regularão positivamente os genes do amanhecer e negativamente TOC1 e genes do entardecer; Fim da tarde: a repressão de TOC1 promove queda nos níveis de LHY e CCA1, que liberará TOC1 e os genes de entardecer, ao fim da noite, a regulação positiva de TOC1 sobre LHY e CCA1 faz os níveis de ambos aumentarem novamente, o que reduzirá os níveis de TOC1 pela manhã.

Apesar de aparentemente simples, o auxílio de muitas proteínas acessórias, inclusive proteínas quinase e proteínas que são capazes de marcar outras proteínas para a degradação são fundamentais na manutenção do relógio biológico.

Para que o relógio biológico funcione corretamente, é necessária uma boa percepção dos períodos e intensidade de luz e do escuro. phyA, phyB, phyD e phyE e ambos os criptocromos mostraram estar envolvidos no ritmo circadiano e no relógio biológico, ressaltando a importância desses fotorreceptores e talvez da associação entre eles na percepção da duração do dia, controlando tanto genes do amanhecer quanto do entardecer.

Floração

As percepções do ritmo circadiano são responsáveis pela capacidade das plantas em perceber a duração do dia. Em espécies de clima temperado, onde as estações do ano são bem definidas, algumas espécies apresentam o processo de floração dependente do comprimento do dia. Essas espécies tem a floração fotoperiódica e apenas florescem quando expostas a um fotoperíodo maior que o crítico da espécie ou a um fotoperíodo menor que o crítico da espécie. As primeiras são chamadas de Plantas dia longo (PDL) e as segundas de planta dia curto (PDC). A percepção da duração do dia é refinada e depende da percepção do fitocromo e de sua conversão durante o período noturno (**Figura 9**). A percepção do fotoperíodo ocorre nas folhas de plantas adultas já prontas para passar ao estágio reprodutivo. Ao fim do dia, a razão Fve/Fv é alta, devido à grande quantidade de luz vermelha e durante o período noturno. No escuro, a forma Fve de phyB faz a fotoconversão lentamente para Fv.

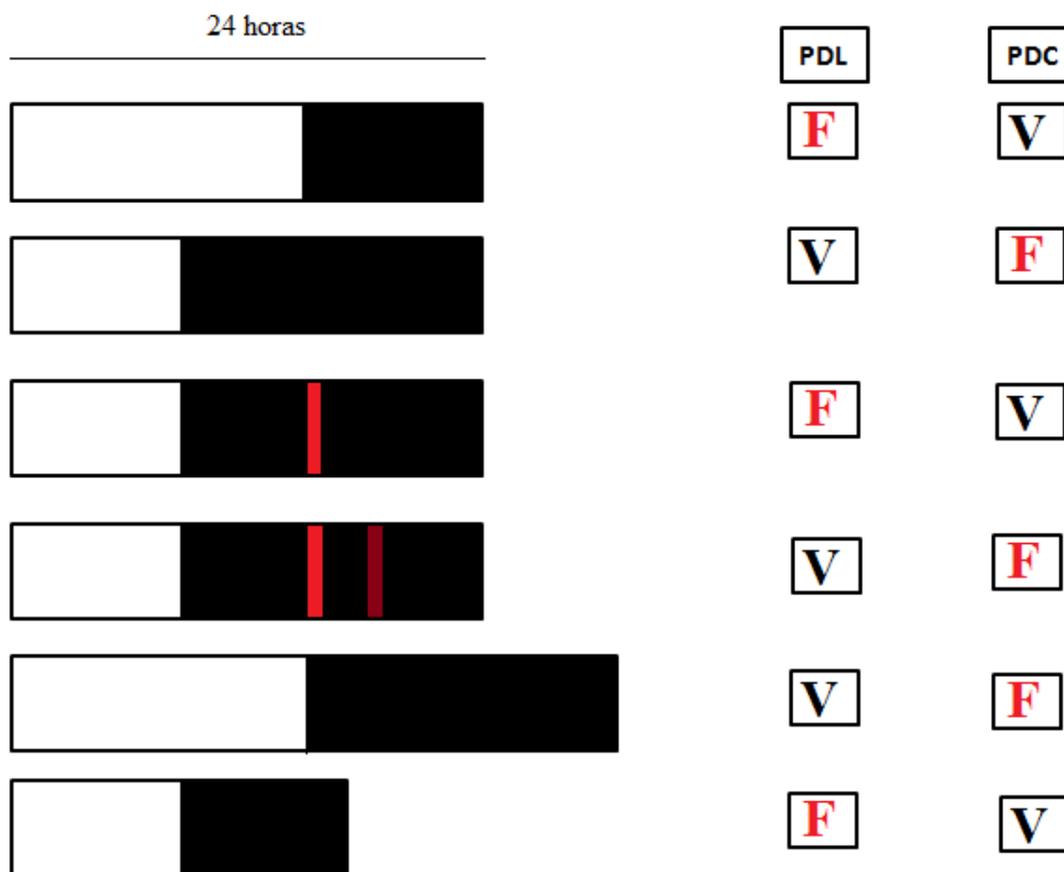


Figura 9. Efeito da duração do período de escuro sobre o florescimento, mostrando que a variável crítica é o período de escuro. PDL = Planta Dia Longo; PDC = Planta Dia Curto; V = permanência na fase vegetativa; F = florescimento. Espaço em branco indica luz branca contínua, espaço em preto indica escuro contínuo, espaço em vermelho indica tratamento com luz vermelha e espaço em vinho indica tratamento com luz vermelho-extremo.

Nas PDCs, a planta é exposta a uma noite longa em que a fotoconversão total de Fve em Fv é feita durante o período no escuro (**Figura 9**). Quando o dia amanhece e a razão Fve/Fv é extremamente baixa, a folha terá o sinal essencial para parar a transcrição do gene HEADING DATE 1, que é um repressor da transcrição de HEADING DATE 3. Este, por sua vez, começará a ser transcrito e seu mRNA será transportado pelo floema até o ápice caulinar, onde fará a ativação do gene AGAMOUS LIKE-20, responsável por evocar as respostas florais e ativar LEAFY e APETALA 1, que iniciarão a transformação do meristema vegetativo em meristema floral. Em PDLs, o contrário acontece, pois as folhas são expostas a uma noite curta, não dando tempo para a total fotoconversão de Fve para Fv e iniciando o dia com uma razão Fve/Fv alta. Esse sinal é o essencial para iniciar a transcrição dos genes CONSTANS. O mRNA desses genes se acumulará no citosol das células da folha durante todo o dia, até chegar ao nível ideal de mRNA que poderá ser degradado, se alcançar o nível máximo no período noturno, ou traduzido, se alcançar o nível máximo no período diurno. Em dias longos, com o tempo do dia maior que o da noite, ainda haverá luz quando ocorrer a acumulação de mRNA necessária para iniciar a tradução. Iniciando a tradução, esses genes farão a ativação do gene FLOWERING LOCUS T, que terá sua proteína transportada pelo floema até chegar ao meristema vegetativo, ativando AGAMOUS LIKE-20. A dependência do fitocromo no fotoperiodismo para a floração é comprovada, uma vez que o comprimento da noite é determinante para que ocorra a floração (**Figura 9**) onde PDC em dias longos, exposto a noites também longas são capaz de florescer. Outro fator que determina o fitocromo como pigmento central para que isso ocorra é que a luz vermelha aplicada no meio da noite em PDC inibe o florescimento e a aplicação de vermelho-extremo após a aplicação de vermelho no meio da noite para PDC é capaz de fazer o florescimento ocorrer.

Fechamento foliar em leguminosas

Um dos exemplos de respostas fisiológicas controladas pela luz e pelo relógio biológico é o fechamento de folíolos em leguminosas, esse evento é denominado nictinastia. Algumas espécies de leguminosas abrem os folíolos ao iniciar o dia, fechando-os no fim da tarde. Esse evento fisiológico é feito em resposta à intensidade da luz. A luz azul, percebida no



início do dia, controla a abertura dos folíolos e a luz vermelha, do fim do dia, seguida do escuro faz o fechamento dos folíolos. Uma vez que o efeito da luz vermelha pode ser revertido pelo vermelho-extremo, o fitocromo é o fotorreceptor aceito por controlar o fechamento dos folíolos. O fechamento dos folíolos é o resultado da diferença de turgidez de células motoras dorsais e células motoras ventrais que é desencadeado pelo fluxo de K^+ e Cl^- para dentro das células motoras dorsais, aumentando a turgidez e expandindo essas células, permitindo então o fechamento do folíolo. Na abertura dos folíolos o processo inverso ocorre, portanto o processo de fechamento dos folíolos é uma resposta do fitocromo associado à diferença de potencial eletroquímico da membrana e turgidez das células.

Relação fitocromo X fitormônios

A sinalização pela luz mediada por fitocromo desencadeia uma série de respostas secundárias em nível genético que estão relacionados a uma série de eventos desencadeando mudanças fisiológicas na planta. Recentemente tem sido estabelecidas relações complementares ou antagônicas entre modo de ação do fitocromo e de fitormônios, mostrando que eles podem estar envolvido em mesmos caminhos. Vem sendo relatado que o fitocromo regula várias proteínas com funções metabólicas, sinalizadoras ou de transporte envolvidas em todas as classes de fitormônios, porém, neste texto será feita apenas uma rápida análise da ação do fitocromo com diferentes tipos de hormônios.

Fitocromo e etileno/auxina parecem ter papéis antagônicos no processo de desestiolamento do hipocótilo. Apesar dos mecanismos bioquímicos ainda serem obscuros, é mostrado que o desestiolamento aparentemente ocorre da relação entre auxinas e etileno que são reprimidos pelo fitocromo, sendo o gene HOOKLESS 1 um dos intermediário que integra esses fatores.

Existem muitos relatos relacionando citocininas com a atividade do fitocromo, mostrando que ambos podem agir em rotas semelhantes, sobretudo no acúmulo de pigmentos e na biogênese de plastídios. É constatado que sinais luminosos e acúmulo de antocianinas agem em vias interdependentes. Em frutos climatéricos, como o tomate (*Solanum lycopersicum*) a adição de citocininas exógenas pode mimetizar mutantes que superexpressam sinais luminosos, nesses frutos também é notável que mutantes hipersensíveis à citocnina conseguem produzir plastídios maiores. Outro mecanismo de ação conjunta entre esse pigmento e as citocininas é na regulação do crescimento de hipocótilo. Fatores de resposta a citocininas tem a capacidade de impedir a rápida conversão de Fve para a forma Fv, mostrando que vários processos que aparentemente estavam ligados à citocinina baseiam-se na capacidade desse hormônio de estabilizar a forma ativa de phyB.

Entre os efeitos de interação de giberelinas com fitocromo, a germinação de sementes fotoblásticas sem dúvida é um dos mais estudados. Após ocorrer a percepção da luz vermelha, a ativação do fitocromo é capaz de atuar para que a transcrição de genes relacionados à síntese de giberelinas seja feita, possibilitando assim a germinação de sementes. Já funções que relacionam fitocromo e etileno, além das atividades antagônicas no desestiolamento, permanecem obscuras. O etileno tem sido relatado com atividade similar à controlada pelo fitocromo na maturação de frutos climatéricos. No entanto, ainda é dúvida se as respostas luminosas e o etileno agem pelas mesmas vias para a maturação do fruto ou se usam vias diferentes. De qualquer forma, frutos de tomate deficientes em etileno apresentam pigmentação alterada.

Referências Bibliográficas

Boeshore ML; Pratt LH (1981) Characterization of molecular modification of phytochrome that is associated with is conversion to the far-red-absorbing form. **Plant Physiology**. 68:789-797.

Brutnell T. O fitocromo e o controle do desenvolvimento das plantas pela luz. In: Taiz-Zeiger (2010). Fisiologia Vegetal.p 476-504. 5 ed. **Artmed**.

Carvalho RF (2008). Estudo da interação entre fitocromo e hormônios vegetais. **Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo. 107 p.**

Debrieux D; Trevisan M; Fankhauser C (2013).Conditional involvement of CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC1 in the degradation of phytochrome A. **Plant Physiology**. 161:2136-2145.



Elich TD; Lagarias JC (1987) Phytochrome chromophore biosynthesis. **Plant Physiology**. 84:304-310.

Kendrick RE; Franklan B. Fitocromo e crescimento vegetal. EPU, 2 edição, 76 páginas, 1978.

Majerowicz N; Peres LEP. Fotomorfogênese em Plantas . In: Kerabauy (2004) Fisiologia Vegetal. p421-438. 2 ed. **Guanabara Koogan**.

Nobel PS. Light. In: Nobel (2009). Physiocochemical and Environmental Plant Physiology. Elsevier. p177-228. 4 ed. **Elsevier**.

Sawers RHH. Diversity of phytochrome chromophores. In: Taiz-Zeiger (2009) Plant Physiology online. essay 17.2. **Artmed**

Ong C; Essen L; Gärtner W; Hughes J; Matysik J. (2012) Solid-State NMR spectroscopic study of chromophore-protein interactions in the Pr ground state of plant phytochrome A. **Molecular Plant**. 5:698-715.

Suboi H; Nakamura S; Eberhard S; Wada M (2012) Red light-induced phytochrome relocation into the nucleus in *Adiantum capillum-veneris*. **Molecular Plant**. 5:611-618.

Viczian A; Ádám E; Wolf I; Bindics J; Kircher S; Heijde M; Ulm R; Schâfer E; Nagy F (2012) A short amino-terminal part of *Arabidopsis* phytochrome A induces constitutive photomorphogenic response. **Molecular Plant**. 5:629-641, 2012.

Zhang J; Stankey RJ; Vierstra RD (2013) Structure-guided engineering of plant phytochrome B with altered phytochemistry and light signaling. **Plant Physiology**. 161:1445-1457.



Anotações:



Nutrição Mineral

Lucas Macedo Félix

Paula Natália Pereira

O estudo da nutrição mineral visa entender como as plantas obtêm e utilizam os nutrientes minerais. Pesquisas acerca desse tema são fundamentais para a produção agrícola e proteção ambiental. Assim, as funções biológicas de cada nutriente mineral nas plantas, bem como os principais sintomas de deficiência são essenciais para aumentar a produtividade agrícola e, conseqüentemente, a economia de um país.

Neste capítulo, abordaremos os principais critérios utilizados nas classificações dos nutrientes minerais, absorção desses através das raízes, translocação dos nutrientes para as diversas partes da planta, processos que acarretam na perda de nutrientes pelos vegetais, como a lixiviação e a gutação e, finalmente, os principais sintomas das deficiências nutricionais.

Classificação dos nutrientes

Alguns nutrientes minerais são considerados essenciais para o crescimento vegetal. Entre eles estão, N, P, K, Mg, Ca, S, P, Cl, Mn, B, Zn, Ni, Cu, Mo. As características utilizadas para classificar esses elementos como essenciais são: 1) sua ausência impede que a planta complete seu ciclo de vida; 2) não podem ser substituídos por outros elementos com características químicas semelhantes; 3) têm participação direta sobre o metabolismo vegetal. Ainda existe uma grande controvérsia sobre a inclusão de outros elementos, como, Na e Si, nesse grupo.

Além dos **elementos essenciais**, os nutrientes minerais podem ser classificados em **úteis**, sendo aqueles que não são essenciais às plantas, mas a sua presença pode contribuir para o crescimento e produção vegetal.

Os nutrientes minerais podem ser classificados de acordo com a quantidade exigida pelos vegetais. **Macronutrientes**, são os elementos exigidos em grandes quantidades (N, PK, Ca, Mg e S), enquanto os **micronutrientes** são aqueles exigidos em menores quantidades pelas plantas (Cl, B, Ni, Mo, Mn, Fe, Zn e Cu).

Outra classificação utilizada é baseada na concentração do nutriente no solo. **Macroelementos** são aqueles cuja concentração é superior a 10^{-6} mol L⁻¹ e **microelementos** apresentam uma concentração no solo inferior a 10^{-6} mol L⁻¹.

Os elementos também podem ser divididos em **quatro grupos de acordo com suas funções bioquímicas**. No primeiro grupo (N, S) estão os nutrientes que fazem parte de compostos de carbono, como proteínas e aminoácidos; no segundo grupo (P, Si, B) estão os nutrientes importantes no armazenamento de energia e/ou integridade celular; no terceiro grupo (K, Ca, Mg, Cl, Mn, Na) estão os elementos que permanecem na forma iônica; o quarto grupo (Fe, Zn, Cu, Ni, Mo) é formado pelos nutrientes que estão envolvidos em reações redox.

Absorção de nutrientes

Quando em ambientes naturais as plantas retiram grande parte dos íons que precisam para seu crescimento do solo, esses minerais são provenientes da decomposição de rochas, a partir de reações geológicas chamadas de intemperismo. Os produtos do intemperismo são o solo e íons que irão se difundir na água intersticial.

Para serem absorvidos, os íons que estão no solo devem estabelecer contato com o sistema radicular da planta e este contato pode-se dar por meio de três processos: interceptação radicular, fluxo em massa e difusão.

Na interceptação radicular, as raízes crescem em todas as direções (explorando o solo) e devido a este crescimento, elas entram em contato direto com os íons que serão absorvidos. No fluxo em massa, a água absorvida, flui ao longo de um gradiente de potencial hídrico e arrasta consigo os nutrientes dissolvidos no solo para perto da superfície radicular onde ficam disponíveis para a absorção. O fluxo em massa é influenciado pela concentração de nutrientes na solução do solo e pela taxa de transpiração da planta. O último processo, a difusão, ocorre quando as raízes absorvem uma quantidade superior de determinado íon que a sua taxa de reposição, ocasionando uma redução de concentração do mesmo nas proximidades da superfície radicular, resultando em um gradiente de concentração ao longo do qual o íon irá se mover.

A absorção de íons pelas plantas pode sofrer interferência de forma direta ou indireta de diversos fatores internos e/ou externos. A intensidade transpiratória e a concentração interna de íons são alguns exemplos de fatores internos, enquanto que o pH e a aeração do solo são exemplos de fatores externos. Estes fatores correlacionados podem alterar de forma positiva ou negativa a absorção de íons pelas raízes.



Transporte dos nutrientes

O transporte ou a translocação nada mais é que o movimento do íon do local que ele foi absorvido para outro, seja para a raiz ou para a parte aérea. Para que os íons possam atingir a parte aérea da planta os mesmos devem sofrer o transporte radial e o transporte a longa distância.

Para o transporte radial, o íon fará o caminho desde as células da epiderme da raiz até os vasos do cilindro central, podendo ser via apoplasto ou simplasto. O apoplasto é um sistema interconectado de paredes celulares e espaços intercelulares onde a água e os íons inorgânicos se movimentam sem restrição sendo, portanto, uma via passiva sem o envolvimento de membranas biológicas. O nome simplasto ou simplasma é dado ao “*continuum*” citoplasmático. A ligação de diversas células a partir de plasmodesmas possibilita este “*continuum*”. Em algumas plantas essas ligações celulares são feitas a partir de simples poros, enquanto que em outras a ligação é feita via retículo endoplasmático.

Entretanto, estas rotas não precisam ser exclusivas, acredita-se que por ser a rota mais fácil, os íons preferencialmente movimentam-se via apoplasto, mas assim que encontram em um “sítio de absorção” eles penetram no protoplasma. A partir daí, os íons movimentam-se até o xilema via simplasma. Após certo ponto, todos os íons devem atravessar a membrana plasmática e penetrar no simplasma a fim de evitar a barreira estabelecida pelas estrias de Caspari.

O transporte a longa distância é o movimento do íon absorvido pela raiz para a parte aérea, predominantemente via xilema, embora alguns íons como o K também o faça via floema. O movimento da seiva do xilema se dá via fluxo em massa sob influência da transpiração ou da pressão osmótica proveniente das raízes.

Além do transporte dos íons via xilema, os nutrientes podem ser redistribuídos, ou seja, o elemento será transferido de um órgão ou região de acúmulo para outra região qualquer da planta de maneira predominante via floema.

Processos de perda dos nutrientes pelas plantas

As plantas durante seu ciclo de vida, dependendo da situação, podem perder íons para o ambiente das seguintes maneiras: lixiviação, gutação, excreção de sais e queda de folhas.

- **Lixiviação:** mesmo com a cutícula e a excreção de cera nas folhas, as mesmas podem perder íons para o meio, pois a cutícula não é inteiramente impermeável, apresentando rupturas e aberturas ao longo da folha. Como resultado, os íons podem ser “lavados” para fora da folha pela chuva ou névoa, ou até mesmo quando é feita a irrigação por aspersão. A injúria da folha causa grande perda de potássio e outros nutrientes, evidenciando a importância das membranas plasmáticas das folhas como barreiras de difusão.
- **Gutação:** a alta pressão radicular e baixa transpiração resultam na exsudação de íons pela folha através dos hidatódios. Os hidatódios são aberturas estomáticas modificadas, que diferentemente dos estômatos, não se fecham.
- **Excreção de sais:** muitas plantas que estão sujeitas às altas concentrações de sais, como as de litoral e de desertos salinos, apresentam mecanismos e estruturas para a excreção de sais para a superfície da parte aérea (especialmente folhas), onde são removidos pela ação da água e do vento. As estruturas especializadas nesse processo são chamadas de “glândulas de sais”.
- **Queda das folhas:** A principal porção de água absorvida pelas plantas terrícolas é eliminada na forma de vapor d’água. Como há a evaporação da água, os sais são acumulados no espaço apoplástico da folha. A remobilização de íons, como o nitrogênio e o fósforo, pode ocorrer, e conseqüentemente, pode colaborar para a senescência e queda das folhas. A queda da folha resulta em uma perda de sais, sendo um mecanismo de descarte de resíduos e reciclagem.

Sintomas de deficiências nutricionais

Os sintomas das deficiências nutricionais estão relacionados às funções desempenhadas pelos nutrientes minerais nas plantas. De modo geral, plantas com deficiência nos elementos móveis, como, N, P, K, Mg, S e Cl apresentam os sintomas em órgãos maduros, enquanto a deficiência de nutrientes com mobilidade intermediária ou baixa, como Fe, Zn, Cu, B, Mo, Ca e Mn afetam principalmente órgãos jovens.

Os sintomas de deficiências nutricionais em geral não aparecem individualizados. Muitas vezes, a ausência de um elemento acarreta na deficiência de outro, uma vez que afeta o metabolismo dos vários nutrientes.

Nesta seção abordaremos as principais características das deficiências nutricionais isoladas, baseadas em experimentos com grandes produções agrícolas.

Deficiência de nitrogênio (N)



- Diminuição do crescimento da parte aérea;
- Diminuição na formação das folhas e flores;
- Clorose generalizada e queda das folhas;
- Caules delgados e lenhosos (acúmulo de carboidratos);
- Formação de áreas roxas (acúmulo de antocianina).

Deficiência de fósforo (P)

- Manchas púrpuras (acúmulo de antocianina);
- Redução na expansão foliar;
- Redução do crescimento;
- Manchas necróticas nas folhas;
- Diminuição no número de flores;
- Atraso da iniciação floral;
- Retardo na maturação da planta.

Deficiência de potássio (K)

- Prejuízo na síntese da parede celular e na turgescência;
- Redução da absorção de água pela parte aérea da planta;
- Inibição na formação e crescimento de gemas;
- Clorose nas margens das folhas;
- Necrose nos ápices, margens e nervuras foliares;
- Caules delgados e fracos;
- Maior suscetibilidade à infecção por fungos.

Deficiência de magnésio (Mg)

- Clorose internerval;
- Abscisão foliar prematura.

Deficiência de enxofre (S)

- Clorose generalizada na superfície da folha;
- Redução do crescimento;
- Formação de áreas roxas (acúmulo de antocianinas).

Deficiência de cálcio (Ca)

- Redução do crescimento;
- Clorose generalizada em plantas com crescimento reduzido;
- Encurvamento das folhas para baixo;
- Deterioração nas pontas e margens das folhas;
- Raízes curtas e ramificadas.

Deficiência de cloro (Cl)

- Redução do crescimento;
- Clorose e necrose generalizadas;
- Atrofiamento das raízes.

Deficiência de cobre (Cu)

- Fechamento estomático;
- Murchamento das folhas;
- Manchas necróticas nas folhas;
- Folhas malformadas;
- Queda prematura das folhas;
- Formação de grãos de pólen com reduzida viabilidade.

**Deficiência de ferro (Fe)**

- Clorose internerval, podendo chegar à clorose generalizada;
- Folhas brancas com necrose em algumas partes (inibe a síntese de clorofila).

Deficiência de manganês (Mn)

- Desorganização das membranas dos tilacóides;
- Clorose internerval;
- Pequenas manchas necróticas.

Deficiência de boro (B)

- Redução na síntese de citocininas e no transporte de auxinas;
- Necrose de folhas jovens e gemas terminais;
- Redução do crescimento radicular;
- Caules quebradiços;
- Perda da dominância apical;
- Redução da resistência mecânica de caules e pecíolos;
- Necrose de frutos e tubérculos.

Deficiência de zinco (Zn)

- Redução do alongamento caulinar;
- Encurtamento dos entrenós;
- Leve clorose nas folhas;
- Diminuição do tamanho das folhas;
- Deformação das folhas.

Deficiência de molibdênio (Mo)

- Clorose generalizada;
- Necrose nas margens foliares;
- Acúmulo de nitrato (Mo é constituinte da enzima nitrato redutase);

Deficiência de níquel (Ni)

- Acúmulo de ureídeos nas folhas (Ni é participante da enzima urease);
- Necrose nos ápices foliares.

Deficiência de silício (Si)

- Maior suscetibilidade ao tombamento;
- Maior suscetibilidade à infecção por fungos.

Deficiência de sódio (Na)

- Clorose generalizada;
- Necrose;
- Inibição da floração.

As deficiências nutricionais podem ser melhoradas pela utilização de fertilizantes (químicos ou orgânicos), que podem modificar o pH do solo e aumentar a disponibilidade dos elementos, facilitando a absorção desses pelas plantas ou os nutrientes de resíduos orgânicos podem ficar disponíveis às plantas por longos períodos.

Além do uso de fertilizantes, a adubação foliar é outra técnica muito utilizada na agricultura, uma vez que diminui o tempo entre a aplicação e a absorção do nutriente pela planta, acelerando o crescimento da mesma e disponibilizando aqueles nutrientes que estão em baixas concentrações no solo.

Referências bibliográficas



Bonato CM; Filho CJR; Melges E; Dos Santos VD. (1998). Nutrição mineral de plantas. **Universidade Estadual de Maringá.**

Epstein E; Bloom, AJ. (2006). Nutrição mineral de plantas. 2 ed. **Planta.**

Faquin V. (2005). Nutrição mineral de plantas. **Universidade Federal de Lavras – UFLA/Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão – FAEPE.**

Kerbaux GB. (2008). Fisiologia Vegetal. 2 ed. **Guanabara Koogan.**

Taiz L; Zeiger, E.(2009). Plant Physiology. 4 ed. **Sunderland, MA: Sinauer Associates.**



Anotações:



Reações Luminosas: Síntese a Partir da Luz

Filipe Christian Pikart
Mauro Alexandre Marabesi

Importância e princípios físicos

A fotossíntese é um processo de extrema importância para a vida na Terra. Deste provem grande parte dos compostos que fornecerão energia e elementos para o desenvolvimento de alguns seres vivos, que por sua vez servirão de fonte de energia para outros. Esse processo de síntese a partir da luz é extremamente dependente da radiação solar, já que esta será a fonte de energia que iniciará o processo de síntese de compostos energéticos. Esta radiação é classificada como uma onda eletromagnética justamente por ser constituída de uma onda elétrica e outra magnética, perpendiculares entre si no seu deslocamento pelo espaço. Na Figura 1 podemos observar essa representação de cada onda em um plano individual e no conjunto formando a onda eletromagnética.

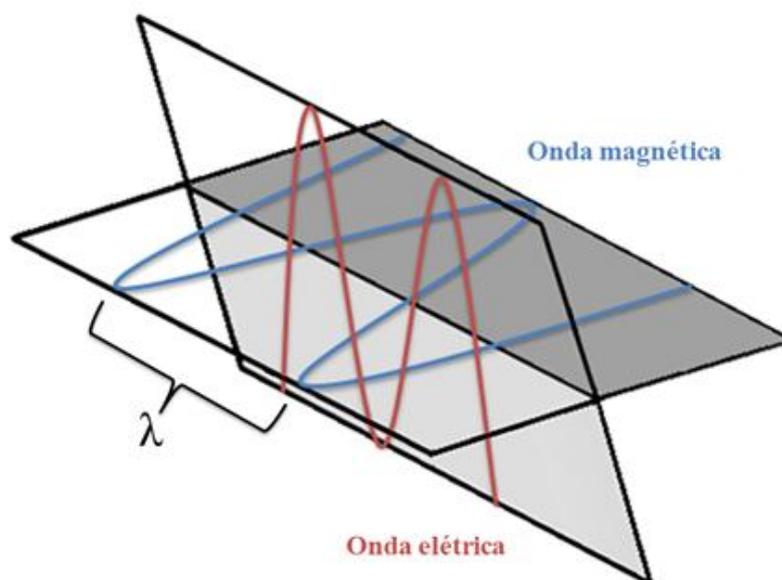


Figura 1. Representação espacial de uma onda eletromagnética composta por uma onda elétrica e uma magnética. A letra grega λ representa o comprimento de onda.

O comprimento de uma onda, representado pela letra grega λ , é estipulado como sendo a distância do auge de uma crista até o auge da próxima crista ou de um vale até a formação do próximo vale. Este é determinante na frequência da onda e conseqüentemente na quantidade de energia que essa é portadora. Dessa forma quanto menor for o comprimento de onda, maior será a sua frequência e o seu conteúdo energético. Outra característica importante da radiação solar é que ela apresenta além de um caráter de onda um caráter de partícula, ou seja, é portadora de pacotes de energia denominados de fótons e o seu conteúdo energético denominado de quanta. Esses fótons são responsáveis por fornecer a energia necessária para a síntese dos compostos energéticos. Porém, vale resaltar que nem todo o espectro da radiação solar é utilizado pelas plantas. Este é composto por comprimentos de onda do ultravioleta, infravermelho próximo e do espectro visível ao homem, compreendido entre 400 e 700 nm. Ainda dentro dessa fração, apenas as faixas do azul e do vermelho são utilizadas pelos vegetais nesse processo de síntese.



Clorofilas e carotenoides: papel e importância

Para que ocorra a utilização da energia contida na luz é necessária a sua interceptação e absorção. Nessa importante etapa ocorre a atuação das clorofilas (a e b) e dos carotenóides. Essas substâncias atuam como antenas captando a luz e realizando a absorção de energia que será utilizada posteriormente. Na Figura 2 podemos observar o espectro de absorção dessas substâncias, onde os carotenóides apresentam uma função de extrema importância já que promovem uma ampliação no espectro de absorção e conseqüentemente na energia captada. Devido a essa função, são denominados pigmentos acessórios.

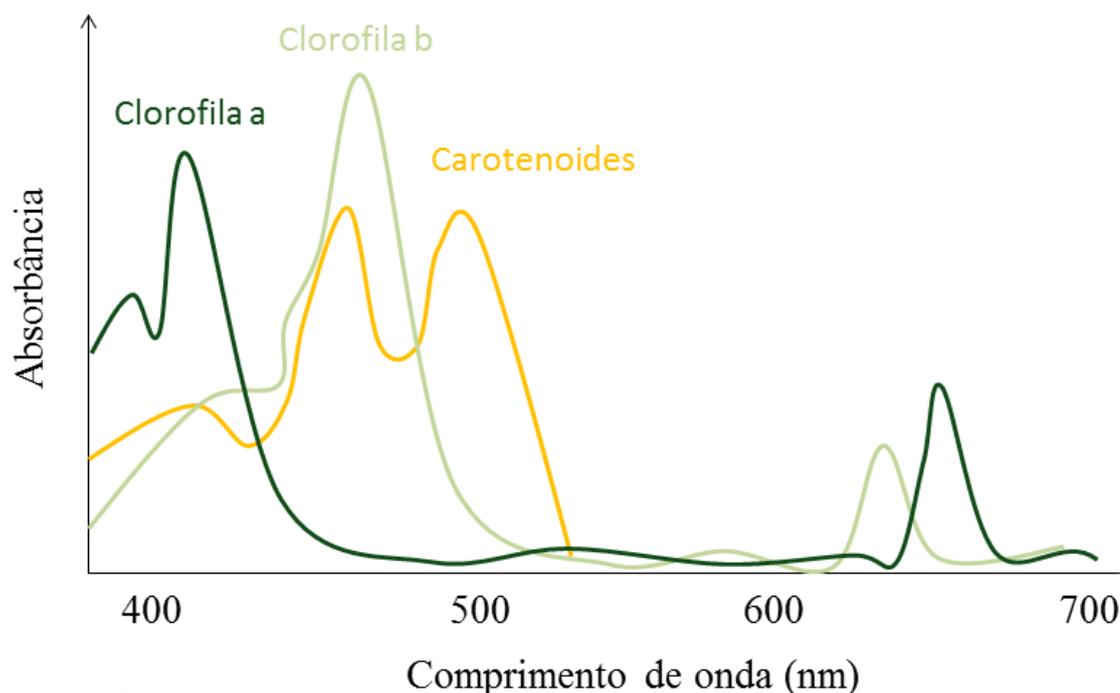


Figura 2. Espectro de absorção da luz pelas clorofilas a e b e pelos carotenóides.

Esses pigmentos estão alocados nas membranas dos tilacóides dentro das organelas denominadas de cloroplastos e compõem o chamado complexo antena. Nessas membranas encontram-se vários pigmentos que realizam a absorção da energia e a transferem para pontos denominados de centros de reação, sendo esses complexos pigmento-proteicos. A transferência de energia do complexo antena até o centro de reação dá-se por ressonância onde por sua vez ocorre a excitação de um elétron devido ao recebimento dessa energia proveniente dos fótons. Esse arranjo, como pode ser visualizado na Figura 3, permite uma redução da ociosidade dos centros de reação possibilitando uma atuação mais constante das enzimas envolvidas nesse processo, acarretando em uma utilização mais eficiente do sistema.

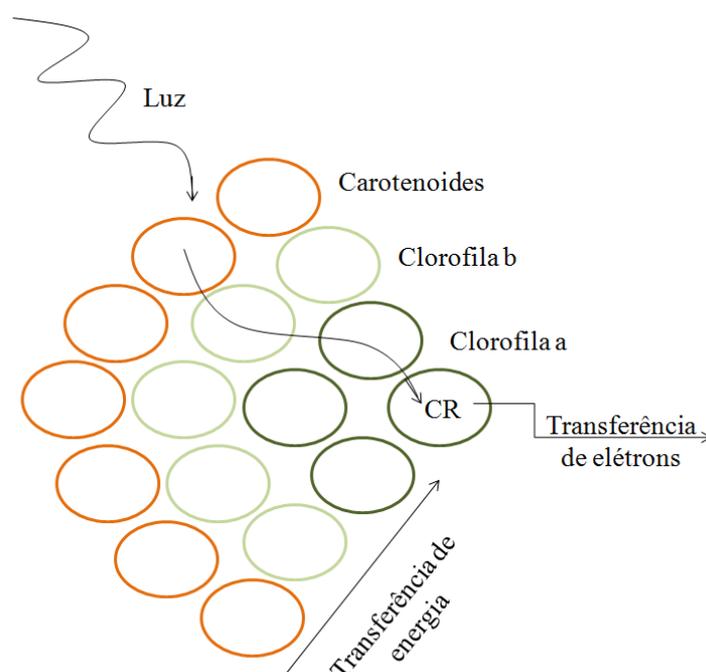


Figura 3. Representação da transferência de energia entre os componentes do complexo antena até o centro de reação; este constantemente sofre redução e oxidação. Até o centro de reação ocorre somente a transferência de energia por meio de ressonância. Essa transferência obedece a uma escala onde os carotenoides apresentam maior conteúdo energético decrescendo até o centro de reação. A energia que alcança esse centro de reação é por sua vez utilizada para o transporte de elétrons.

Uma organização sequencial dos pigmentos em direção ao centro de reação (Figura 3) também está relacionada com o espectro de absorção de cada pigmento e a quantidade de energia corresponde ao comprimento de onda referente. Como pode ser visto na Figura 2, carotenoides apresentam maior absorção de energia, seguido da clorofila b e por último a clorofila a. Em cada passo de transferência ocorre a dissipação de parte dessa energia na forma de calor resultando em um sentido único de transferência, concentrando-a no centro de reação. A partir do momento em que a energia chega até o centro de reação e excita o elétron é iniciado um processo denominado de cadeia de transporte de elétrons que resultará por fim na formação de NADPH e ATP.

A transferência de elétrons resulta em NADPH e ATP

A energia proveniente da luz que chega até os centros de reação resulta na hidrólise da água e na liberação de O_2 , prótons (H^+) e elétrons. Esses elétrons, por meio de um fluxo de oxidações e reduções sequenciais originam a denominada cadeia de transporte de elétrons. Já os prótons são liberados no lume do tilacóide contribuindo para a formação de um gradiente eletroquímico e por meio da ATP sintase são translocados para o estroma reduzindo ADP a ATP como pode ser observado na Figura 4.

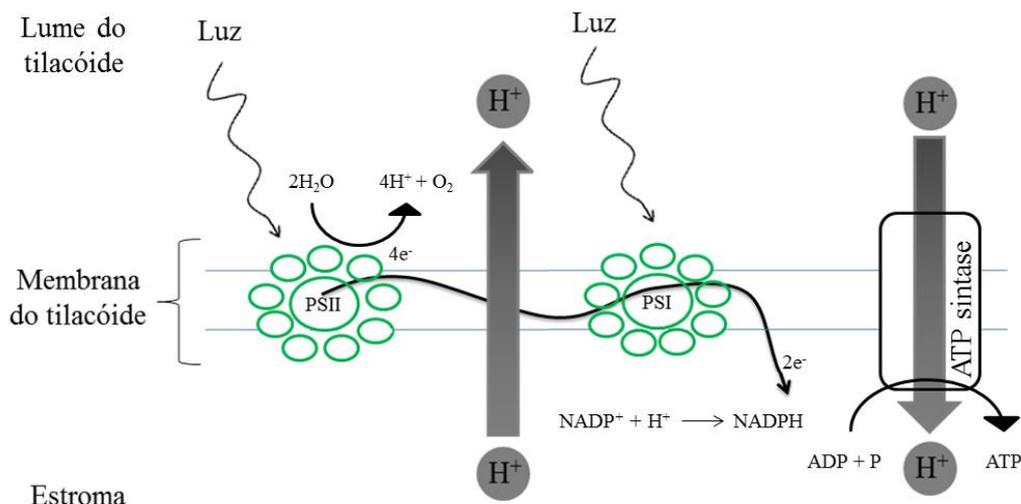


Figura 4. Esquema representando a membrana do tilacóide no qual estão inseridos os fotossistemas I e II. Representação do local da fotólise da água, do transporte de elétrons, e da formação de NADPH e ATP.

O NADPH é proveniente da redução do NADP por meio da NADP⁺ redutase como resultado final do transporte linear de elétrons. Este é constituído por uma sequência de compostos, entre eles o fotossistema I (PSI) e o fotossistema II (PSII) obedecendo a uma ordem de potencial redox (Figura 5). Com a absorção da energia pelo PSII ocorre sua alteração de estado passando para um estado excitado. Como nos sistemas a tendência natural é o retorno para um estado de equilíbrio, ocorre a liberação dessa energia absorvida por meio de um elétron, reposto por outro proveniente da água. Esse elétron liberado altera o estado de um receptor seguinte até atingir o PSI que por sua vez repassa elétrons para outro receptor até alcançar a NADP⁺ redutase. Como pode ser observado na figura 6, o PSI é excitado pela energia proveniente da absorção de luz na faixa de 700nm e repassa seu elétron que posteriormente é reposto por outro proveniente do PSII.

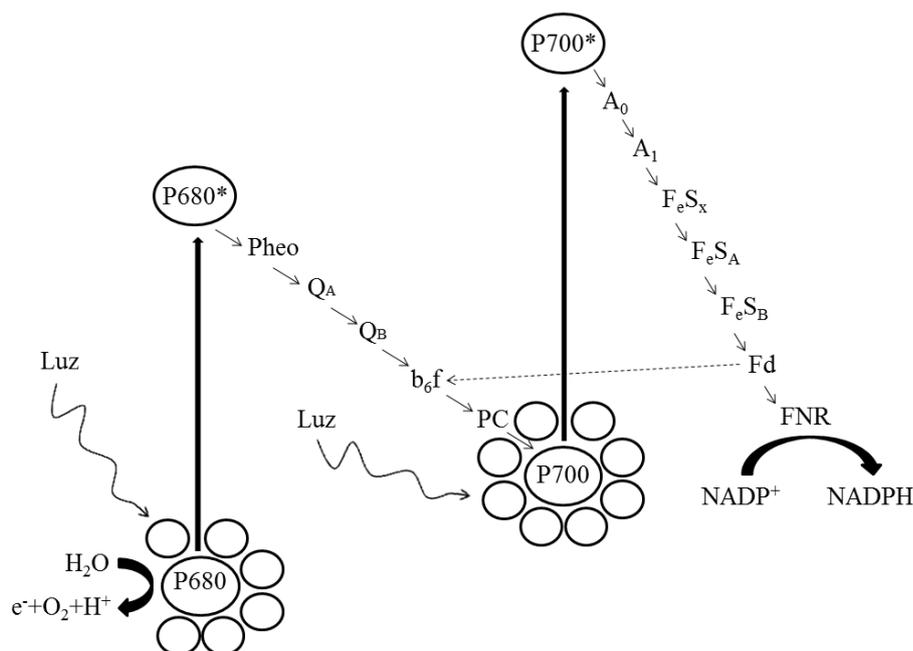


Figura 5. Representação do esquema Z de transporte de elétrons, onde P680 representa o fotossistema II e o P700 o I. Quando esses vêm acompanhados do * significa que estão no seu estado excitado. Na cadeia de transporte: Pheo representa a feofitina; QA e QB são plastoquinonas; b6f é um complexo de citocromos; PC uma plastocianina. Acredita-se que A0 seja uma clorofila e A1 uma quinona. FeSx, FeSa e FeSb são proteínas ferro-sulfurosas e Fd uma ferredoxina solúvel. Ao



final da cadeia a FNR (flavoproteína solúvel ferredoxina-NADP redutase) reduz NADP^+ a NADPH. A seta pontilhada ligando a Fd ao citocromo b6f representa o transporte cíclico de elétrons.

Esse fluxo que leva a produção de NADPH representa o transporte não cíclico de elétrons, contrariamente o transporte cíclico não gera a produção desse composto e ocorre pelo retorno do elétron da ferredoxina (Fd) para o complexo citocromo b6f e novamente para o PSI (Figura 5). Esse processo leva ao bombeamento de prótons H^+ para o lume acarretando na formação posterior de ATP.

Produtos energéticos do transporte de elétrons

Os compostos energéticos por sua vez serão utilizados nas vias de assimilação de carbono – C3, C4 ou CAM – pelo Ciclo de Calvin, também para a assimilação de nitrogênio (N), enxofre (S) ou em outros processos internos.

O N é assimilado nas plantas comumente na forma de nitrato (NO_3^-) ou por meio da associação com bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico (N_2). A assimilação do NO_3^- é iniciada pela sua redução a nitrito (NO_2^-) através da atividade da enzima nitrato redutase (NR), sendo que esta reação ocorre no citoplasma das células das raízes ou das partes fotossintetizantes. Dessa forma, o processo de assimilação do NO_3^- ocorre pela atuação de dois tipos de enzima NR, uma que utiliza elétrons provenientes do NADH e do NADPH, atuando nas células das raízes, e a outra que utiliza elétrons provenientes somente do NADH, localizada nos tecidos fotossintetizantes. O NO_2^- é uma forma de N altamente reativa e tóxica para as plantas, sendo assim é rapidamente conduzido para os cloroplastos ou para os plastídeos das raízes. Nessas organelas, o N é reduzido a amônio (NH_4^+) através da enzima nitrito redutase. Também ocorre em duas formas, uma que recebe elétrons do NADPH, atuante nos tecidos não fotossintetizantes, e a outra que recebe da ferredoxina nos tecidos fotossintetizantes. Ao final dessa rota tem-se a assimilação do NH_4^+ pela formação de aminoácidos utilizados pela planta para a formação de outras moléculas. Na assimilação por meio da simbiose, destacam-se as bactérias *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, principalmente, em raízes de espécies leguminosas. Nesse processo as bactérias reduzem o N_2 a NH_4^+ e o disponibilizam para as plantas. Estas por sua vez fornecem fotossintetizados e condições para o desenvolvimento das bactérias. As plantas utilizam o NH_4^+ em reações de aminação, fixando o N em compostos contendo C, que por sua vez serão utilizados para a formação de outros compostos.

A assimilação do S ocorre principalmente na forma de sulfato (SO_4^{2-}) presente na solução do solo e uma pequena quantidade na forma de dióxido de enxofre (SO_2) absorvido pelos estômatos. A formação de compostos contendo o S é iniciada pela ativação do SO_4^{2-} envolvendo o consumo de ATP e a enzima ATP sulfúrilase, podendo ocorrer tanto nos plastídeos como no citoplasma. Posteriormente o produto dessa reação denominado de APS pode ser sulfatado ou predominantemente reduzido, processo que ocorre nos plastídeos várias etapas. Primeiramente ocorre a reação da APS com a glutatiónmediada pela APS redutase, resultando em sulfito (SO_3^{2-}). Posteriormente tem-se a transferência de seis elétrons da ferredoxina por meio da sulfito redutase resultando em sulfeto (S^{2-}). Esse produto reage com o O-acetilserina formando cisteína e acetato. A via alternativa de assimilação de S que ocorre no citosol é iniciada pela APS quinase na reação da APS com o ATP resultando em 3'- fosfoadenosina -5'- fosfosulfato. Posterior a isso as sulfotransferases realizam a transferência do grupo sulfato para várias outros compostos como a colina, flavonol, ácido gálico, brassinosteróides, glicosídeos, glucosinolatos, peptídeos e polissacarídeos.

Uma via de utilização dos compostos energéticos produzidos pelo transporte de elétrons é a regeneração da ribulose-1,5- bifosfato convertida a 2-fosfoglicolato e 3-fosfoglicerato pela oxigenação dessa molécula por ação da enzima rubisco, processo denominado de fotorespiração. Outro exemplo é a eliminação das espécies reativas de oxigênio, por exemplo o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela catalase ou pela ascorbato peroxidase.

Sobrecarga no sistema

Vale lembrar um ponto extremamente importante, que nenhuma maquinaria apresenta um aproveitamento de 100% da energia fornecida e dentro disso a maquinaria fotossintética não foge dessa realidade. Quando ocorre um acúmulo de energia proveniente dos fótons – seja por uma alta incidência de radiação, indisponibilidade de elétrons para receberem



essa energia ou pelo acúmulo final de produtos energéticos – pode ocorrer a formação do denominado oxigênio singlet (O_2^*) e outras formas reativas como o H_2O_2 e o radical hidroxila. Essa forma de oxigênio é altamente reativa e causa danos principalmente a lipídeos que são componentes de membranas, podendo também realizar a ativação de proteases acarretando na inativação de proteínas como a D1 – proteína presente no PSII. Ocorrendo danos a membranas, a estabilidade celular é comprometida. Dessa forma, esse excesso de energia deve ser dissipado de alguma forma para evitar consequentes danos. As plantas apresentam duas vias para dissipação dessa energia excessiva, calor e fluorescência da clorofila a.

Na dissipação por meio de calor ocorre a atuação de carotenoides por meio de um processo enzimático de conversão da violaxantina para zeaxantina devido à acidificação do lume do tilacóide resultante do transporte de elétrons (Figura 6). Ocorre a ativação da enzima violaxantina de-epoxidase que por sua vez acarreta na protonação de uma proteína (PsbS) associada ao centro de reação do PSII. A violaxantina é convertida a zeaxantina e juntamente com a PsbS promovem uma mudança conformacional no centro de reação resultando no aumento da liberação de energia na forma de calor. Já com a alcalinização do meio ocorre o processo inverso direcionando a energia para o processo fotoquímico.

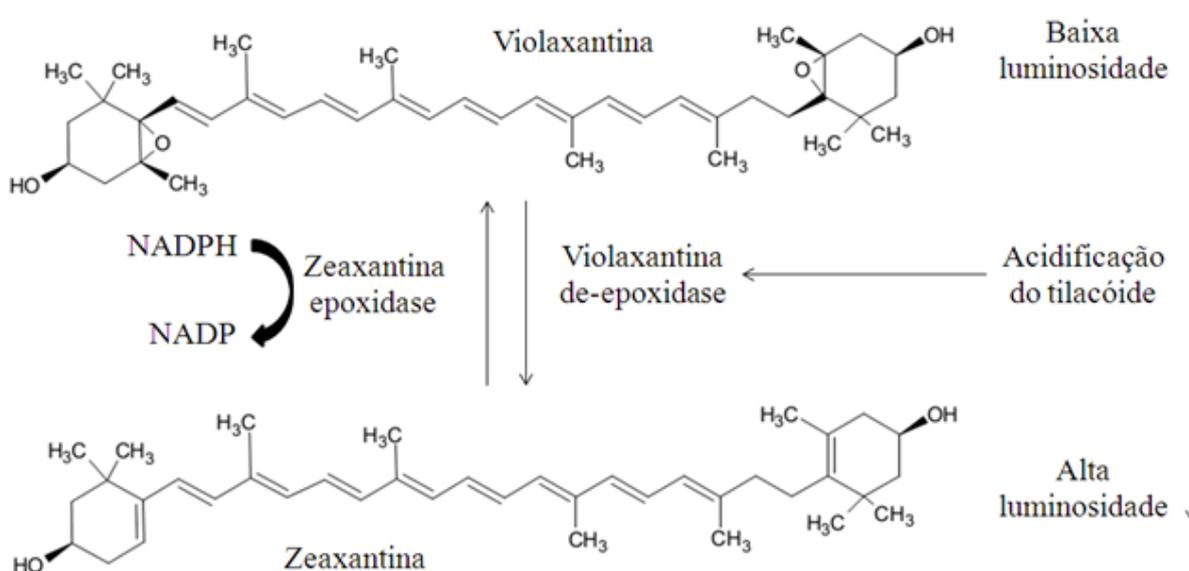


Figura 6. Representação do processo de variação da violaxantina e zeaxantina de acordo com alterações de pH devido ao transporte de elétrons desencadeado pela incidência de luminosidade.

A dissipação do excesso de energia pode também ocorrer por meio da fluorescência da clorofila a que nada mais é do que a emissão da energia na forma de fótons com um comprimento de onda na faixa do vermelho longo. Dessa forma com a utilização de equipamentos adequados é possível a quantificação dessa fluorescência e isso vem sendo utilizado como ferramenta para estudos ecofisiológicos de desempenho fotossintético.

Esses processos de dissipação de energia pela via fotoquímica, calor ou fluorescência apresentam-se competitivos entre si, dessa forma quando um apresenta um consumo maior do total da energia que chega ao centro de reação, automaticamente os outros dois processos receberão uma quantidade comparativamente menor.

Mesmo com esses meios de dissipação do excesso de energia em alguns casos podem ocorrer danos ao fotossistema, fenômeno esse caracterizado como fotoinibição. Tem-se dois tipos de fotoinibição, o dinâmico e o crônico. O primeiro é caracterizado por apresentar uma redução na eficiência quântica, porém apresentando uma taxa fotossintética máxima igual quando comparada com uma situação normal conforme pode ser visto na Figura 7. Isto ocorre pelo desvio do excesso da energia para vias de dissipação devido a saturação dos centros de reação pela alta incidência de luz, sendo um estado temporário.

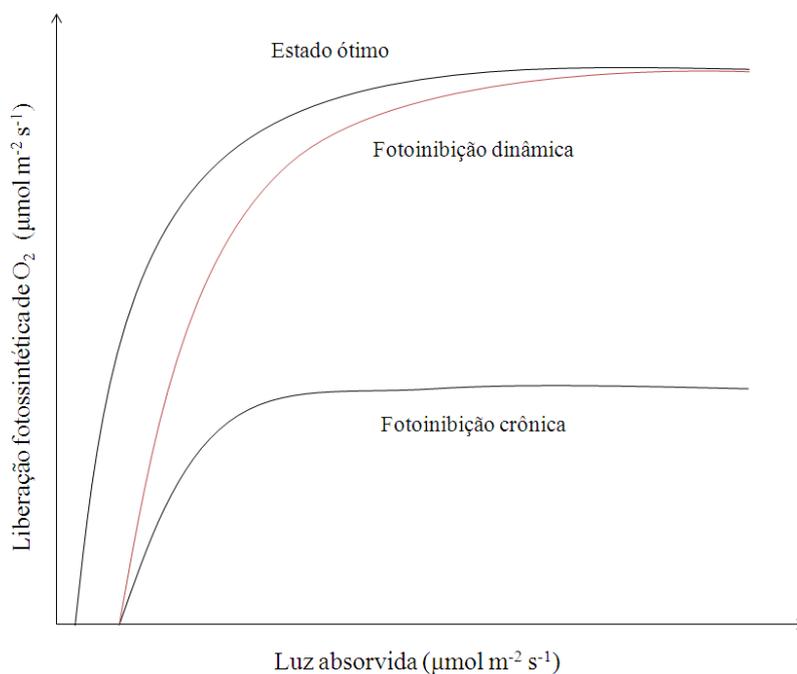


Figura 7. Representação gráfica do estado fotossintético ótimo e dos dois estados de fotoinibição, o dinâmico e o crônico.

O segundo tipo é devido a danos ao fotossistema resultante de elevados níveis de radiação ou devido a falhas nos sistemas de dissipação de energia, sendo caracterizado por ser um estado temporário mais demorado, necessitando de um tempo maior para retornar ao estado normal devido aos reparos necessários. Esse processo de reparo compreende a substituição da proteína D1 que foi oxidada, necessitando ser substituída para que o fotossistema retome a sua funcionalidade.

Referências bibliográficas

Baker N. R. (2008) Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology** 59: 89-113.

Foyer C. H. Noctor G. (2000) Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling **New Phytologist** 146: 359-388.

Maxwell K. Johnson G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany** 51: 659-668.

Oxborough K. (2004) Imaging of chlorophyll a fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. **Journal of Experimental Botany**, 55: 1195-1205.

Yin X. Harbinson J. Struik P. C. (2006) Mathematical review of literature to assess alternative electron transports and interphotosystem excitation partitioning of steady-state C3 photosynthesis under limiting light **Plant, Cell and Environment** 29: 1771–1782.



Anotações:



Mecanismos de Mitigação do Déficit Hídrico em Plantas Vasculares.

Leonardo Hamachi

O movimento da água: do solo até a atmosfera

O movimento da água no interior das plantas depende da energia disponível para torná-lo possível. Os fisiologistas de plantas utilizam um parâmetro, que indica essa quantidade de energia, chamado de potencial hídrico (Ψ_w). O sentido do movimento da água é dos maiores potenciais para os menores potenciais.

Em uma célula vegetal os principais componentes do Ψ_w são: o potencial osmótico (Ψ_s), a pressão hidrostática (Ψ_p), e potencial gravitacional (Ψ_g).

Assim como na célula, o Ψ_w do solo pode ser decomposto em duas principais variáveis, que são: o potencial osmótico (Ψ_s), que exceto em solos salinos, é desprezível, e em pressão hidrostática (Ψ_p). O Ψ_w do solo pode se tornar bastante negativo e dificultar a absorção d'água pela planta. Isso ocorre, pois nos espaços intersticiais do solo a água em contato com as partículas do solo ou com as células do parênquima forma interfaces ar/água curvas. À medida que a água evapora, o raio dessas porções curvas da molécula diminui, o que resulta numa pressão hidrostática negativa segundo a equação 1:

$$(1) \Psi_n = - 2T/r$$

Sendo T a tensão superficial da água ($7,28 \times 10^{-8}$ MPa x m) e r , o raio das interfaces curvas ar/água.

O Ψ_w do solo pode cair abaixo do que é chamado de ponto de murcha permanente em situações de seca. Neste ponto a planta não consegue recuperar sua pressão de turgor mesmo se a perda d'água para a atmosfera cessar completamente.

Na folha o Ψ_w pode ser decomposto em Ψ_p , Ψ_s e em potencial gravitacional (Ψ_g). Este órgão tem papel fundamental no transporte de água ao longo de todo organismo da planta. Do solo, a água é absorvida pelas raízes, passando pelo xilema radicular, xilema caulinar e chegando à folha, onde a tensão superficial da água em evaporação na interface células do mesófilo/espaço intercelular gera um potencial bastante negativo o suficiente para que a água seja transportada até mesmo para as copas de grandes organismos como as arbóreas de maneira semelhante ao que ocorre no solo, contudo a água formará interfaces curvas com as paredes celulares das células do mesófilo e à medida que evapora, Ψ_p diminui de acordo com a equação 1. Finalmente, a água atravessa os estômatos, presentes na epiderme foliar, e alcança a atmosfera.

Portanto, em última análise, esse fenômeno depende da variação da diferença entre o potencial Ψ_w do solo e das paredes celulares das células do mesófilo. Em ambos os casos, os valores podem variar bastante e a água só será transportada da raiz para as copas das plantas se Ψ_w das folhas $>$ Ψ_w do solo.

Quando a água se torna mais disponível nos espaços intersticiais do solo os raios das superfícies curvas da água aumentam reduzindo o potencial hidrostático. Nesta situação os estômatos se abrem, a água dos espaços intercelulares é perdida para a atmosfera através do processo da difusão, os raios das superfícies curvas da água nas paredes celulares do mesófilo diminuem reduzindo o Ψ_w nas folhas, provocando a condução da água, que evapora ao atingir seu destino final.

Após a evaporação, a água no espaço intercelular será perdida para a atmosfera através do processo da difusão dado pela equação:

$$J_s = - D_s \times \Delta c_s / \Delta x$$

Sendo que D_s é a densidade da água, Δc_s é a variação da concentração de água entre os locais onde ocorrerá o processo e Δx , a distância que será percorrida pela água.

A esse fenômeno dá-se o nome de transpiração, que pode ser dividido em dois outros fenômenos: a transpiração cuticular, na qual a planta perde apenas 5% da água total pela cutícula e a estomática, na qual a maior parte da água é perdida pelos estômatos.

A ocorrência da transpiração estomática depende de dois fatores. O primeiro é a diferença de concentração do vapor d'água entre a atmosfera e as lacunas do mesófilo, sendo que esse parâmetro varia com a temperatura e o segundo é a resistência à difusão que, por sua vez, é composta por duas outras variáveis. A resistência à difusão pelo poro estomático,



denominada resistência estomática e a resistência da camada de ar estática que se forma ao redor da folha, ou resistência da camada limítrofe.

Como a espessura da camada limítrofe e a temperatura da atmosfera não estão sob o controle das plantas, o controle biológico em curto prazo da resistência estomática depende exclusivamente da abertura e do fechamento dos estômatos.

Estratégias das plantas vasculares de sobrevivência ao déficit hídrico

Existem basicamente dois tipos de plantas, as homohídricas, que desenvolveram a habilidade de controlar a perda d'água em condições limitantes de água, mantendo um conteúdo de água favorável no protoplasma, ou de atenuar os efeitos deletérios do estresse hídrico nas células, e as plantas poiquilohídricas, que não são capazes de controlar a perda d'água para o ambiente, neste caso o conteúdo de água nos tecidos varia de acordo com a disponibilidade do líquido no ambiente. Nesse capítulo consideraremos como homoídricas todas Tracheophytas, enquanto as poiquilohídricas ficam restritas às Bryophytas.

As plantas homohídricas podem ser classificadas de acordo com suas respostas ao déficit hídrico. Existem aquelas que evitam a seca e aquelas que toleram a seca. A maioria das plantas terrestres pode ser classificada como “evitadora de seca”, o que significa que elas direcionam seu metabolismo no sentido de manter o Ψ_w elevado, impedindo a percepção do déficit hídrico pelo protoplasma. Alguns exemplos de estratégias de evitar a seca são o armazenamento de água, o desenvolvimento de sistemas radiculares profundos, a aceleração da ontogenia, o sombreamento da folha, o enrolamento da folha e a diminuição da condutância estomática.

Enquanto plantas tolerantes à seca sofrerão uma grande perda d'água concomitante à diminuição do Ψ_w , e do conteúdo relativo d'água. Contudo em ambas as estratégias as plantas atingirão o ponto de murcha permanente. Ainda, entre as plantas tolerantes à seca, há espécies tolerantes a dissecação, que resistem à perda de toda a água livre no protoplasma sendo capazes de sobreviver com um conteúdo relativo d'água menor do que 25%, porém elas passam antes pela fase da tolerância.

Uma importante adaptação de tolerância à seca é o ajuste osmótico ou osmorregulação através do acúmulo de altos teores de solutos em resposta ao estresse hídrico, o que resulta na manutenção do potencial de turgor e, portanto, do crescimento da planta. Os açúcares e aminoácidos são os maiores constituintes da osmorregulação.

Outra resposta fisiológica é a proteção da maquinaria celular. Durante a desidratação moderada (fase de tolerância) a redução do volume celular causa uma aglomeração dos componentes citoplasmáticos e o conteúdo das células se torna mais viscoso, aumentando a chance de interações moleculares que causam a desnaturação de proteínas e fusão de membranas. Moléculas como a prolina, o glutamato, a glicina-betaína, a carnitina, o manitol, o sorbitol, os frutanos, os poliols, a trealose, a sacarose e os oligossacarídeos são conhecidas por prevenir esse tipo de interação. A exclusão preferencial destes solutos da superfície das proteínas e das membranas permite que a água envolva estas estruturas mantendo-as hidratadas e suas conformações e integridades intactas.

Porém, se a desidratação prosseguir para níveis extremos, no caso de plantas tolerantes à dissecação, há um acúmulo de carboidratos que formam uma matéria vítrea, ligam-se às proteínas através de pontes de hidrogênio e substituem a água que se dissipa, sendo que fenômeno semelhante ocorre com as membranas os açúcares, que se ligam às cabeças apolares dos fosfolípidios estabilizando integridade dessas estruturas.

Enquanto plantas “evitadoras da seca” previnem-se da desidratação excessiva, as “tolerantes à seca” sofrem a perda d'água, mas atuam para minimizar os efeitos deletérios do estresse hídrico. O conhecimento a respeito desses mecanismos tem sido importantes para se entender como algumas espécies são capazes de completar seus ciclos de vida em ambiente secos, além disso, há o interesse de se utilizar esse conhecimento para a seleção de cultivares de importância agrônômica viáveis em ambientes mais secos.

Referências Bibliográficas

Wood, A. J. (2005) Ecophysiological adaptations to water limited environments. In: JENKS, M. A. HASEGAWA, P. M. **Plant Abiotic Stress**. India: Blackwell Publishing. p. 1-13.

Holbrook, N. M. Water and Plant Cells. In: Taiz, L. Zeiger, E. **Plant Physiology**.

Holbrook, N. M. Water Balance of Plants. In: Taiz, L. Zeiger, E. **Plant Physiology**.



Morgan, J. M. (1982) Osmoregulation and water stress in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**. v. 35, p. 299-319.

Hoekstra, F. A. Golovina, E. A. Buitink, J. (2001) Mechanism of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**. v. 6, p. 432-438.



Anotações:



2

Diversidade e Evolução



Polinização e Tipos de Reprodução em Angiospermas

Fabiana Firetti-Leggieri

Juliana El Ottra

As plantas, diferentemente da maioria dos animais, são organismos imóveis (sésseis) e por isso necessitam de agentes externos para a sua reprodução sexuada. As angiospermas desenvolveram um conjunto de características que permitem que elas controlem ativamente a sua escolha de parceiros para a reprodução sexuada. Esse conjunto de características está reunido na flor. As flores são definidas como eixos caulinares com entrenós encurtados que comportam apêndices foliares modificados para exercerem a função de reprodução. Nas flores, os verticilos externos, denominados cálice e corola, geralmente exercem os papéis de proteção dos verticilos reprodutivos mais internos e de atração dos animais polinizadores, respectivamente. Já os verticilos reprodutivos (mais internos), androceu e gineceu, produzem, respectivamente, os grãos-de-pólen que carregam os gametas masculinos e os óvulos que, após fertilizados, darão origem às sementes.

Polinização

As flores das angiospermas apresentam uma extraordinária diversidade de formas e cores que vem impressionando botânicos desde os tempos de Goethe. Os estudos das flores com enfoque ecológico associam a existência de tal diversidade à influência de vários fatores, bióticos e abióticos, que atuam na evolução das flores, sendo a pressão seletiva por parte dos polinizadores de grande importância. Estudos realizados com diversos grupos de plantas mostram que polinizadores exercem pressões seletivas consideráveis sobre um conjunto de caracteres florais relacionados à polinização. A seleção de tais feições florais pode estar diretamente relacionada à especiação e diversificação das taxa por afetarem o sucesso reprodutivo das plantas. Desse modo, a geração de tais características morfológicas é notável exemplo de ação da seleção natural e de seus produtos adaptativos. As evidências dos estudos de adaptação floral em relação aos seus vetores de pólen levaram ao surgimento do conceito de síndromes de polinização, que consiste na convergência das formas florais em linhagens de plantas filogeneticamente distantes, e sua associação previsível com certos polinizadores, sejam estes bióticos ou abióticos.

Os principais tipos e características das síndromes de polinização seriam: **Polinização Biótica**

Polinização por besouros (cantarofilia): As flores polinizadas por besouros são geralmente grandes e solitárias (ex: magnólias) ou pequenas e agregadas em inflorescências (ex: Araceae); nos besouros, o sentido de olfato é mais altamente desenvolvido que o visual e as flores polinizadas por besouros são brancas ou com cores pouco vistosas, mas com odor forte, distinto de odores adocicados. Os recursos podem ser néctar e pólen ou somente pólen e partes florais.

Polinização por abelhas (melitofilia): as abelhas caracterizam o grupo mais importante de animais visitantes de flores; as flores que co-evoluíram com as abelhas têm pétalas vistosas, com plataformas de pouso e são vivamente coloridas, geralmente azuis e amarelas ou cores que refletem o UV; apresentam marcas (guias de néctar) que indicam a posição do néctar, o principal recurso coletado pelas abelhas, que geralmente é produzido em áreas de difícil acesso como nectários situados na base do tubo da corola; a flor geralmente apresenta odor agradável e o pólen também pode ser coletado.

Polinização por borboletas (psicofilia): as flores que coevoluíram com borboletas são similares, em muitos aspectos, a flores polinizadas por abelhas; entretanto, geralmente são flores tubulosas e de cores chamativas (vermelha ou alaranjada), néctar escondido em tubo floral estreito ou esporão (cálcx), flores de orientação ereta, com odor fraco.

Polinização por mariposas noturnas (falenofilia): as flores polinizadas por mariposas noturnas são tipicamente brancas ou de cor pálida e com odor fortemente adocicado que usualmente é emitido após o pôr-do-sol; o recurso que as flores oferecem a esses visitantes geralmente é o néctar produzido por nectários localizados no tubo de uma corola tubular, longa e delgada ou em esporões, ou ainda flores em forma de estrela e orientadas geralmente na vertical.

Polinização por moscas (miofilia): as flores miófilas apresentam cores claras e opacas e néctar de livre acesso, ou então, no caso da sapromiofilia com flores de cor escura como castanho-avermelhado ou marrom e que emitem odor fétido parecido com o de carne podre.



Polinização por aves (ornitofilia): No continente americano, os principais polinizadores entre as aves são os beija-flores, já em outras partes do mundo as flores são visitadas por representantes de outras famílias de aves; as flores polinizadas por aves têm néctar copioso e pouco espesso, retido em tubos florais ou outras estruturas, geralmente têm pouco ou nenhum odor, são coloridas (geralmente vermelhas e amarelas), grandes ou compõem grandes inflorescências (estímulo visual); a orientação das flores é vertical, com ou sem plataforma de pouso (esta é ausente no caso de flores polinizadas por beija-flores, que por adejarem não necessitam pousar para a retirada do néctar).

Polinização por morcegos (quiropterofilia): os morcegos visitantes de flores podem ser encontrados em áreas tropicais do Velho e do Novo Mundo; as flores visitadas por esse grupo de animais são grandes e robustas, ficam pendentes ou no tronco das árvores (cauliflora), ou ainda em orientação horizontal, produzem grandes quantidades de néctar, este geralmente em tubos florais ou outras estruturas, têm cores pouco vistosas, odor forte de material fermentado ou fruto maduro e abrem somente durante a noite.

Polinização abiótica

Polinização pelo vento (anemofilia): as angiospermas polinizadas pelo vento estão melhor representadas em regiões temperadas, sendo relativamente raras nos trópicos. Nas regiões temperadas, ao contrário das regiões tropicais, as espécies são encontradas em grandes densidades por área e os indivíduos da mesma espécie se encontram relativamente próximos. Para uma polinização bem sucedida realizada pelo vento, a floração geralmente ocorre no período em que as plantas estão sem folhas, as flores femininas e masculinas se encontram em indivíduos separados (plantas dióicas), são pouco vistosas com os verticilos externos geralmente reduzidos ou ausentes, os estames são bem expostos e as anteras produzem grande quantidade de pequenos grãos de pólen lisos, os estigmas são grandes e expostos, sendo comumente ramificados ou plumosos, o ovário geralmente produz um único óvulo, não há produção de néctar e não apresentam odor.

Polinização pela água (hidrofilia): as angiospermas polinizadas pela água são plantas aquáticas submersas que vivem em ambientes marinhos ou de água doce, presentes em cerca de 79 famílias e 380 gêneros. Neste tipo de polinização, o pólen pode ser liberado isoladamente e, neste caso, forma filamento (pólen filiforme) ou é disperso agrupado formando uma cadeia. Em outras plantas, como em *Vallisneria* por exemplo, as flores estaminadas, com três estames eretos como velas, são liberadas até a superfície onde flutuam e levam o pólen às grandes flores pistiladas.

Apesar do conceito de síndromes de polinização ter sido amplamente utilizado no passado e ter dominado a literatura por muitos anos, estudos mais recentes, no entanto, têm argumentado que a ocorrência de tal fenômeno não é universal, uma vez que em certos grupos de plantas nota-se uma fraca associação entre um grupo particular de polinizadores e a morfologia floral. Adicionalmente, o conceito de síndromes não abrange certas características florais que influenciam a polinização, como período e duração da floração durante o ano, período de abertura da flor ao longo do dia, duração da antese floral e recompensas florais que estão também diretamente relacionadas ao sistema de polinização e ao comportamento dos animais com as plantas. Por exemplo, uma flor que morfologicamente se caracteriza como falenófila, mas que possui flores abertas, com néctar e exalando odor também durante o dia, apresenta também visitas de polinizadores diurnos, como borboletas. Deste modo, o tradicional conceito de síndromes de polinização não pode ser usado para definir precisamente o polinizador efetivo de cada espécie vegetal. Também em relação aos estudos evolutivos, o que se tem observado atualmente é que o fenômeno das síndromes de polinização deve ser analisado com critério, uma vez que se sabe que outros fatores podem influenciar a evolução floral em um grupo, notavelmente as restrições filogenéticas, que limitam a convergência das feições florais.

Apesar do conceito de síndromes não poder ser utilizado, nós podemos classificar as plantas em oligofílicas (ou especialistas) ou polifílicas (ou generalistas) quanto ao seu sistema de polinização. As espécies oligofílicas tendem a apresentar flores com morfologia e outros recursos (odor, por exemplo) mais especializados e, por isso, são visitadas por um ou poucos grupos funcionais de animais. Um grupo funcional de polinizador é classificado de acordo com semelhanças quanto ao hábito e comportamento ao forragear a flor, e que por isso exerceriam pressão seletiva similar sobre as características florais. Assim se uma flor for visitada por cinco espécies de abelhas e 10 espécies de moscas melitófas, esta seria visitada por dois grupos funcionais: o das abelhas e o das moscas. Um exemplo de sistema de polinização especializado seria o caso de flores que possuem as pétalas altamente modificadas, de cor escura, que lembram carne em decomposição, e que exalam um odor fétido e que atraem apenas moscas saprófitas (e.g. algumas espécies de *Stapelia*, Apocynaceae; *Bulbophyllum*, Orchidaceae). Já as espécies polifílicas apresentam morfologia floral menos sofisticada e investem na polinização por uma ampla gama de polinizadores apresentando assim um sistema de polinização considerado



generalista. A vantagem de ser uma espécie oligófila ou poliflora irá depender das condições ambientais em que a planta está sujeita. A oligofilia é mais vantajosa em ecossistemas estáveis onde os polinizadores são numerosos e diversos e muitas espécies de plantas polinizadas por animais florescem sincronicamente. Em contraste, as plantas polifloras, que são visitadas por vários animais generalistas, terão vantagem em ambientes perturbados onde os potenciais polinizadores são escassos. No entanto, não se deve descartar o conceito de síndromes florais, uma vez que estas são úteis para a geração de hipóteses testáveis em campo, já que, servem como ponto de partida para estudos sobre a biologia floral de grupos onde esta é totalmente desconhecida.

Sistemas reprodutivos

A reprodução das plantas é determinada, geralmente, pelas interações extrínsecas com os vetores de pólen e pelo tipo de sistema reprodutivo. A reprodução sexuada tem grande vantagem seletiva. Ela ocorre apenas em organismos eucariotes e é decorrente de uma alternância de gerações regular entre meiose e fecundação. Uma das mais significativas características da reprodução sexuada é que esse mecanismo produz uma enorme variabilidade genética, o que ajuda na manutenção da diversidade. Nas angiospermas, a reprodução sexuada não requer apenas a produção de gametas, mas também o desenvolvimento das flores e de vários outros dispositivos que aumentam as possibilidades de fecundação desses gametas.

A polinização pode ocorrer dentro da mesma flor (autopolinização, autogamia), entre as flores de um mesmo indivíduo (geitonogamia) ou entre flores de indivíduos diferentes (polinização cruzada). Geneticamente, a autogamia é equivalente a geitonogamia. Muitas plantas evitam a autopolinização e, deste modo, as consequências da depressão endogâmica, desenvolvendo mecanismos que favoreçam a polinização cruzada. Tal impedimento é alcançado pela separação dos gametas femininos e masculinos no tempo ou no espaço e por mecanismos de auto-incompatibilidade.

A separação espacial (ou hercogamia) pode ocorrer de diversos modos. Esta pode ocorrer através da dioecia ou monoecia. Na dioecia, as flores estaminadas e pistiladas se encontram em indivíduos diferentes, enquanto que na monoecia as flores de sexos separados estão localizadas no mesmo indivíduo. Ainda, a hercogamia pode apresentar-se dentro de uma mesma flor (hercogamia intrafloral). Neste caso, o estilete pode localizar-se acima do nível das anteras (hercogamia de aproximação), ou também pode ocorrer o inverso - as anteras localizam-se acima do nível dos estigmas (hercogamia reversa).

A separação temporal (ou dicogamia) é alcançada quando a liberação dos grãos de pólen e a receptividade estigmática ocorrem em momentos diferentes, *e.g.*, quando o estigma está receptivo antes de ocorrer a liberação do pólen (protoginia) ou quando as anteras liberam os grãos de pólen antes de o estigma estar receptivo (protandria).

Outro mecanismo para evitar a autopolinização é a auto-incompatibilidade (SI), *e.g.*, a incapacidade de uma planta bissexual produzir zigotos a partir da autofertilização. É um dos principais mecanismos que evoluíram nas plantas com flores para favorecer a xenogamia e, conseqüentemente, a geração de variabilidade genética. Estima-se que metade das angiospermas sejam SI, sendo documentada em eudicotiledôneas, monocotiledôneas e em *taxa* considerados basais na árvore das angiospermas. As melhores evidências para a presença de auto-incompatibilidade são: (1) germinação do pólen e crescimento de tubo polínico diferencial após a autopolinização e polinização cruzada; (2) desenvolvimento diferencial dos óvulos após a autopolinização e polinização cruzada; (3) aborto sincrônico de frutos e parada no desenvolvimento dos embriões após a autopolinização.

O controle genético nos sistemas de SI é geralmente exercido por um único locus, o gene S, com muitas formas alélicas alternativas, os quais podem estar associados a outros genes que não contribuem para a especificidade da SI, mas parecem participar da sua expressão. Existem diferentes maneiras de classificar os sistemas de incompatibilidade, as quais são definidas pelo tipo de controle genético, pelos locais no pistilo onde se processam as reações de reconhecimento e rejeição do gametófito masculino e conforme as flores são homomórficas ou heteromórficas. De acordo com tais critérios são reconhecidos três tipos fundamentais de SI: o sistema homomórfico gametofítico (GSI), o sistema homomórfico esporofítico (SSI) e o sistema heteromórfico (HetSI).

GSI: O sistema homomórfico gametofítico, ou auto-incompatibilidade gametofítica, é considerado o tipo mais comum nas angiospermas; de acordo com o modelo genético estabelecido, o locus S multialélico atua na especificidade deste sistema. A reação de incompatibilidade é determinada pelo alelo S portado pelo gametófito masculino, deste modo, a



reação de incompatibilidade ocorre quando o produto de um alelo *s* do gametófito masculino (grão de pólen/ tubo polínico) encontra o produto de um alelo *s* idêntico no tecido transmissor do estigma/estilete.

SSI: No sistema homomórfico esporofítico, ou auto-incompatibilidade esporofítica, o controle genético da incompatibilidade é exercido por apenas um locus *S*, contendo vários alelos em uma população. Neste sistema de incompatibilidade, ambos os alelos *s* presentes no esporófito doador de pólen (planta parental paterno) determinam a reação de incompatibilidade. Assim, cada grão de pólen (haplóide), embora possua apenas um alelo *s* em seus núcleos, é potencialmente capaz de desencadear a reação de incompatibilidade para ambos os alelos presentes no esporófito no qual o pólen foi formado. Admite-se que o produto do gene *S* em plantas com SSI é uma substância derivada das células tapetais, depositada na exina dos grãos de pólen. Este sistema de incompatibilidade parece ser bastante raro nas angiospermas, tendo emergido várias vezes em grupos taxonômicos filogeneticamente não relacionados.

HetSI: sistema heteromórfico, ou auto-incompatibilidade heteromórfica, é um tipo de SI esporofítica que envolve diferenças na morfologia floral. Neste caso, como visto em *Primula*, um tipo de flor tem um estilo longo e estames curtos (forma *pin*) e o outro tipo possui estames longos e estilete curto (forma *thrum*). Neste caso somente as polinizações realizadas entre morfos diferentes são bem sucedidas. Uma situação mais rara e complexa ocorre em espécies trísticas com três alturas de estilete e de estames, sendo o princípio da incompatibilidade semelhante ao da distília. O heteromorfismo é governado por um supergene, uma série de genes próximos ou ligados em um cromossomo. Os indivíduos *thrum* são heterozigotos (*Ss*) e os *pins* são homozigotos recessivos (*ss*).

Além do comprimento dos estiletos e da altura das anteras, outras diferenças morfológicas acompanham as diferentes formas florais como tamanho do pólen, morfologia da exina, tamanho das papilas estigmáticas. Vários estudos indicam que as características morfológicas do pólen e das papilas estigmáticas que acompanham as formas florais podem favorecer a aderência e, conseqüentemente, o potencial germinativo dos grãos de pólen na superfície estigmática. Devido à associação entre heterostilia e HetSI, este sistema é facilmente reconhecido na natureza e já foi registrado em 24 famílias e em mais de 164 gêneros de angiospermas. As famílias que apresentam o maior número de gêneros e espécies heteromórficas são Primulaceae, Oxalidaceae, Plumbaginaceae, Connaraceae e Rubiaceae. A ampla distribuição da HetSI indica uma evolução independente desse sistema em muitos grupos taxonômicos, filogeneticamente não relacionados e esse tipo de SI parece ter emergido mais freqüentemente do que os sistemas homomórficos.

Auto-compatibilidade

Dentro de muitas espécies auto-incompatíveis há uma variação na auto-fertilidade entre as plantas. Condições ambientais externas, principalmente aumento de temperatura, são conhecidos por incrementar a auto-fertilidade em espécies auto-incompatíveis. Sabe-se que a auto-fertilidade também muda com a idade das flores e com o número de frutos desenvolvidos na planta. Há evidências que a quebra da SI em flores mais velhas aumentam a taxa de auto-fertilização quando as plantas têm acesso restrito aos polinizadores (garantia de produção de progênie quando os polinizadores são escassos). Um exemplo são as plantas colonizadoras que nem sempre têm seus polinizadores disponíveis na área colonizada.

A transição da auto-incompatibilidade para a auto-compatibilidade é uma das vias mais freqüentemente atravessadas na evolução do sistema reprodutivo das plantas. Tradicionalmente, populações de espécies auto-incompatíveis com polimorfismos genéticos para auto-fertilidade são vistas como populações em transição para a auto-compatibilidade. Diversos pesquisadores têm-se perguntado se o polimorfismo genético para a auto-fertilidade é um produto da seleção para a manutenção de um sistema sexual misto. Recentes modelos teóricos têm explorado uma gama de parâmetros que levam a polimorfismos estáveis para a manutenção de um sistema sexual misto em espécies auto-incompatíveis. Os polimorfismos genéticos para a auto-fertilidade parecem mais constantes em populações de espécies auto-incompatíveis que estão em baixa densidade ou em habitats altamente fragmentados. Deste modo, uma predição é que polimorfismos estáveis de auto-fertilidade são mais comuns em espécies que possuem metapopulações dinâmicas. Provavelmente, a presença de genes que aumentam a auto-fertilidade em espécies auto-incompatíveis permite que as espécies maximizem seu “fitness” e sua diversidade genética via polinização cruzada enquanto assegura a reprodução nos episódios de colonização e expansão da população (pseudo-auto-fertilidade).



Reprodução assexuada

A reprodução assexuada, dividida em apomixia e reprodução vegetativa, resulta em uma progênie proveniente de mitose e que é geneticamente idêntica à planta-mãe. Frequentemente, as plantas se reproduzem sexuada e assexuadamente, garantindo-se com as duas estratégias evolutivas. A vantagem da reprodução assexual é que numerosos propágulos podem ser gerados eficientemente em um curto espaço de tempo e sem a dependência da transferência de gametas. Entretanto, a principal desvantagem evolutiva é a ausência de variabilidade genética resultante desse processo.

Reprodução vegetativa

A reprodução vegetativa consiste na produção de clones genéticos a partir de tecidos vegetativos. Os clones vegetativos são produzidos pela formação de plântulas aéreas, como por exemplo, o desenvolvimento de plântulas nas margens das folhas de *Kalanchoedaigremontiana*. O clone pode também resultar de estolões, rizomas, bulbos, e outros que podem ser dispersos para longe da planta-mãe.

Apomixia

A apomixia é um método assexual de reprodução por meio de sementes que impede a meiose e a fertilização para culminar no desenvolvimento autônomo do embrião, produzindo, deste modo, uma progênie clonal. Em plantas apomíticas, o desenvolvimento sexual é desregulado em vários momentos: (1) a meiose é alterada ou está ausente para a produção de um gametófito feminino não reduzido e geneticamente idêntico à planta-mãe; (2) a fertilização é evitada, produzindo um embrião autônomo (partenogênese); (3) o desenvolvimento do endosperma é espontâneo ou sexual.

Estudos embriológicos distinguem três diferentes mecanismos de apomixia baseados na origem e localização das células iniciais do desenvolvimento apomítico. De acordo com tal classificação, os tipos de apomixia geralmente reconhecidos nas angiospermas são: apomixia gametofítica, dividida em aposporia e diplosporia, e embrionia adventícia.

Na apomixia gametofítica, o saco embrionário surge de uma célula inicial não reduzida meioticamente. De acordo com o tipo de célula que dará origem ao saco embrionário, esse mecanismo de apomixia pode ser dividido em aposporia e diplosporia. Na aposporia, ou aposporia somática, células esporofíticas do óvulo, geralmente do nucelo, originam sacos embrionários não reduzidos, como resultado da divisão mitótica. Nesse caso, os sacos embrionários não reduzidos podem coexistir com o formado meioticamente, tendo como consequência a formação de embriões apomíticos e zigótico na mesma semente. A maioria das espécies apospóricas é pseudogâmica, pois necessita da fertilização dos núcleos polares para a formação do endosperma. Na diplosporia, ou aposporia generativa, o saco embrionário é formado de uma célula generativa (célula-mãe do megásporo), diretamente por mitose (diplosporia mitótica) ou indiretamente, por meiose modificada (diplosporia meiótica), tendo como produto final um saco embrionário não reduzido.

Na embrionia adventícia, os embriões assexuais são formados a partir de células do nucelo ou do tegumento interno. As células somáticas que originam os embriões são denominadas embriócitos. Na maioria dos casos, a embrionia adventícia ocorre na presença de reprodução sexuada, sendo tais espécies consideradas apomíticas facultativas. Nestes casos, a formação de sementes poliembriônicas viáveis geralmente necessita da fertilização para a formação do endosperma. No entanto, a formação espontânea do endosperma ocorre em algumas espécies como em *Commiphorawigthii*, uma espécie considerada apomítica autônoma ou obrigatória. Esta forma de apomixia é a mais comumente encontrada nas plantas tendo sido registrada em 57 famílias e 225 gêneros e também é a forma mais comum de produção de sementes poliembriônicas.

Os embriões supranumerários das sementes poliembriônicas podem ser de natureza esporofítica ou gametofítica e podem ser originados por processo sexual ou apomítico. A produção sexual de embriões supranumerários ocorre a partir dos seguintes processos: (1) poliembrionia zigótica, onde os embriões supranumerários resultam da clivagem das células do embrião formado a partir da fertilização da oosfera; (2) poliembrionia a partir do suspensor, processo no qual os múltiplos embriões são originados a partir da divisão das células do suspensor do embrião zigótico; (3) poliembrionia com origem nas sinérgides, consta da fertilização da oosfera e de uma das sinérgides; quando há a penetração do óvulo por um único tubo polínico, os embriões zigótico e da sinérgide não se desenvolvem pois não há formação do endosperma,



portanto, a poliembrionia nesse caso só forma semente poliembriônica quando mais de um tubo polínico consegue alcançar o óvulo e participar da fecundação. Já a produção esporofítica de tais embriões ocorre geralmente a partir das células do nucelo ou dos tegumentos (embriócitos).

Referências bibliográficas

Asker SE;Jerling L. (1992)Apomixis in Plants.**CRC Press**.

Faegri K.; van der Pijl, L. (1979)The Principles of Pollination Ecology. **Pergamon Press**.

Fenster CB;Armbruster WS; Wilson P; Dudash MR; Thomson JD.(2004) Pollination syndromes and floral specialization.**Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 35: 375-403**.

Koltunow AM. (1993)Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell 5: 1425-1437**.

Koltunow AM;Grossniklaus U. (2003)Apomixis: a developmental perspective.**Annual Review of Plant Biology 54: 547-574**.

Lakshmanan KK;Ambegaokar KK.(1984)Polyembryony. In: Johri BM. (ed.). Embryology in Angiosperms.**Spring-Verlag**.

Naumova TN. (1992)Apomixis in Angiosperms: Nucellar and Integumentary Embryony. **CRC Press**.

ProctorMCF;Yeo P; Lack A. (1996)Thenatural history of pollination. **Harper Collins New Naturalist**.

Simpson MG.(2010) Plant Systematics.2nd ed. **Academic Press**.

Stebbins GL.(1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. I. Pollination mechanisms. **Annual Review of Ecology and Systematics 1: 307-326**.

Waser NM;Chittka L; PriceMV; WilliamsNM; Ollerton, J.(1996) Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology 77:1043-1060**.

Webb, C. J., Lloyd, D. G. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II: Herkogamy. **New Zealand Journal of Botany 24: 163-178**.



Anotações:



A Origem do Cloroplasto e a Evolução dos Eucariontes Fotossintetizantes

Cíntia Iha
Fernando Sena

Registros fósseis indicam que havia vida na Terra há cerca de 3 bilhões de anos. Nessa época, a única forma de vida eram células procarióticas, que viviam em um ambiente pobre em oxigênio e rico em gás carbônico e outros gases. As primeiras evidências concretas do aparecimento de organismos fotossintetizantes datam de 2,8 a 2,5 bilhões de anos atrás. As evidências fósseis, geoquímicas e moleculares indicam que esses organismos eram semelhantes às cianobactérias atuais. Esses dados mostram que a origem das cianobactérias e da fotossíntese oxigênica foram concomitantes na história da vida na Terra.

As cianobactérias e a fotossíntese oxigênica permitiram grande modificação do ambiente. A reação da fotossíntese absorve o gás carbônico atmosférico e libera oxigênio (Figura 1). Com o passar dos milhões de anos, o oxigênio foi se acumulando e culminou na primeira grande poluição atmosférica. A maioria dos organismos procariontes que existiam possuíam um metabolismo redutivo anaeróbico pouco eficiente e morreram por causa da oxidação, resultante do acúmulo de oxigênio. Essa oxidação do ambiente permitiu dois eventos muito importantes: o primeiro foi o aparecimento de um metabolismo muito mais eficiente – a respiração aeróbica (Figura 1); o segundo foi o consequente surgimento dos organismos eucariontes.

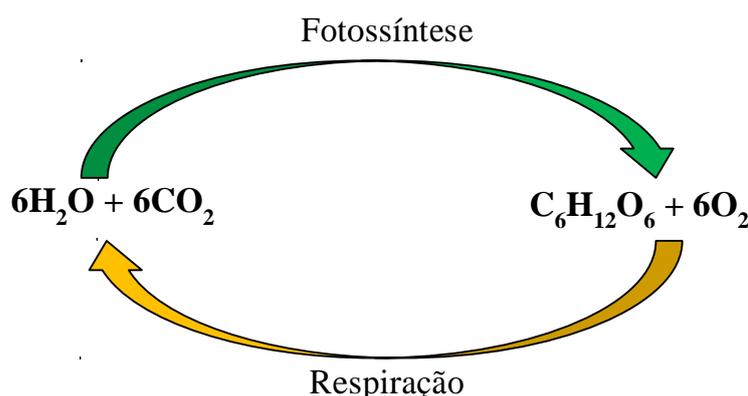


Figura 1: Fotossíntese e respiração. Os reagentes da fotossíntese são os produtos da respiração e vice-versa.

Os primeiros eucariontes apareceram há cerca de 1,5 bilhões de anos. O fato impressionante é que a diversificação dos eucariontes ocorreu de forma bastante rápida, em comparação ao tempo entre do surgimento da vida até o aparecimento do primeiro eucarionte. Do aparecimento da vida até o surgimento da primeira célula eucariótica se passaram 2 a 1,5 bilhões de anos; do aparecimento do eucariotos até os dias de hoje, cerca de 1,5 bilhões de anos. A diversidade atual e já extinta de eucariontes é enorme. Provavelmente esse “*bloom*” evolucionário de eucariontes só foi possível em decorrência de um terceiro evento ocasionado pela oxidação da atmosfera: o surgimento da camada de ozônio, que protegeu a vida contra os raios UV que danificam a estrutura do DNA.

O nosso planeta está repleto de vida fotossintetizante, sendo que os únicos procariontes fotossintetizantes conhecidos são as cianobactérias. Todas as outras formas de vida que fazem fotossíntese são eucariontes. O surgimento do eucarionte fotossintetizante ocorreu graças a uma cianobactéria que viveu simbioticamente dentro de uma célula eucarionte, até então não fotossintetizante. Esse evento é chamado de endossimbiose. O advento da endossimbiose deu capacidade às células eucarióticas de captar luz e fixar carbono, gerando seu próprio alimento, o que foi vantajoso para elas. A cianobactéria também se beneficiou, pois recebeu abrigo e proteção da célula eucariótica. Ocorreu então uma coevolução entre a célula hospedeira e a cianobactéria intracelular, que evoluiu para organelas, hoje conhecidas como cloroplastos. Essa coevolução permitiu a origem e o desenvolvimento das plantas e algas atuais.

A ideia básica sobre a origem dos cloroplastos parece muito simples: a endossimbiose de uma cianobactéria dentro de uma célula eucariótica, em que ambas se beneficiam e podem coevoluir. Porém, a realidade é muito mais complicada. Existem eucariontes fotossintetizantes de vários tamanhos, desde as plantas terrestres e grandes macroalgas até unicelulares, como as microalgas. Além disso, esses organismos podem ser sésseis ou móveis e ocupam todos os



ambientes: terrestre, aquático, do equador aos polos. A diversidade de eucariontes fotossintetizantes é enorme e muitos desses organismos não evoluíram juntos. Esse capítulo vai mostrar um panorama geral da origem do cloroplasto e como esse evento permitiu a diversidade de organismos eucariontes fotossintetizantes.

As algas e sua diversidade

Para tratar da evolução do cloroplasto e dos organismos eucariontes fotossintetizantes é necessário ter uma visão geral da diversidade desses organismos. Tradicionalmente, as algas são todas as formas de vida fotossintetizante com clorofila *a*, que não são as plantas terrestres. Essa visão era suficientemente ampla para incluir organismos tão distintos como procariontes (as cianobactérias) e eucariontes. Dos eucariontes são considerados “algas” tanto organismos próximos às plantas terrestres como protozoários próximos a organismos não fotossintetizantes (Figura 2). De modo geral, as algas estão supostamente unificadas com base na fotossíntese oxigênica, apesar de essa habilidade não retratar uma evolução originada de um mesmo ancestral comum.

Todas as formas de vidas existentes hoje estão divididas em três domínios: Bacteria, Archaea (procariontes) e Eukarya (todos os organismos eucariontes). A fotossíntese oxigênica está presente nos domínios Bacteria (apenas nas cianobactérias) e Eukarya, espalhada em diversos grupos. É consensual que a origem dos eucariotos é única, ou seja, ocorreu apenas uma vez, porém existem várias evidências mostrando que os organismos eucariontes fotossintetizantes surgiram diversas vezes. Para entender essa diversidade será passado brevemente quem são esses organismos.

Atualmente, são reconhecidos cinco grandes grupos em Eukarya: Unicontes (dividido em Opistocontes e Amoebozoa), Archaeplastida, Rhizaria, Chromoalveolados (divididos principalmente em Alveolados e Estramenópilas) e “Excavados” (dividido em Excavados e Discicristados). Apenas um deles não possui representantes fotossintetizantes: os Unicontes (Figura 2).

A primeira vez que ocorreu a endossimbiose foi com ancestral comum do grupo Archaeplastida (*archae* = antigo; *plastida* = cloroplasto). Esse evento ocorreu apenas uma vez e é chamado de endossimbiose primária. Todas as espécies desse grupo são fotossintetizantes e existem fortes indícios de ser um grupo monofilético. Existem três grandes linhagens distintas: Rhodophyta, que são as algas vermelhas; Chloroplastida, que inclui as algas verdes e as plantas terrestres; e Glaucophyta.

O grupo Rhizaria possui organismos que são majoritariamente ameboides e fazem parte, principalmente, do plâncton do mar. Porém existem também organismos de água doce e terrestres. Fazem parte desse grupo: Radiolaria, Foraminifera, Plasmodiophora, Heliozoa e Cercozoa. Apenas em Cercozoa existem organismos fotossintetizantes, as “cloraraquiniófitas” (Chlorarachniophyta). Estas algas são unicelulares, marinhas. Apesar de elas serem fotossintetizantes, estão bastante relacionadas com organismos heterotróficos.

Estramenópilas fotossintetizantes constituem em torno de onze linhagens distintas, todas elas possuem cloroplasto com clorofila *a* e *c*. Entre elas estão dois grupos que são ecológica e economicamente importantes: as diatomáceas e as algas pardas, juntos formam o grupo heterocontes. As diatomáceas são microalgas muito abundantes no plâncton marinho e de água doce. Possuem uma carapaça de sílica bipartida que se encaixam como uma caixa com uma tampa. As algas pardas (Phaeophyceae) são macroalgas que estão amplamente distribuídas no globo terrestre, principalmente nas regiões temperadas. Existem espécies enormes, que podem chegar a 60 metros de comprimento e formam verdadeiras florestas subaquáticas, conhecidas como florestas de *kelps*.

Dentro do grupo dos alveolados, apenas os dinoflagelados possuem representantes fotossintetizantes, mesmo assim, não são todos. Dinoflagelados formam um grupo diverso, predominantemente unicelular. Apenas metade deles é fotossintetizante, mas há indícios que o ancestral comum do grupo era capaz de realizar fotossíntese e, ao longo da evolução, uma parte perdeu essa capacidade. Apicomplexas são grupo-irmão dos dinoflagelados e inclui importantes agentes que causam doenças, como malária (*Plasmodium*) e toxoplasmoze. Todos os apicomplexas, apesar de não fazerem fotossíntese, possuem um cloroplasto vestigial chamado apicoplasto, sugerindo que o ancestral comum entre dinoflagelados e os aplicomplexas era fotossintetizante.

As haptófitas e as criptófitas são algas evolutivamente próximas das estramenópilas. Elas também possuem cloroplasto com clorofilas *a* e *c*, o que sugere que o ancestral comum entre as estramenópilas, haptófitas e criptófitas já possuía cloroplasto com clorofila *c*.

Os únicos organismos fotossintetizantes dos excavados são as euglenófitas. Ainda assim, apenas uma parte delas possuem cloroplastos. As euglenófitas são unicelulares de vida livre que ocorrem nos ambientes marinhos e de água doce.

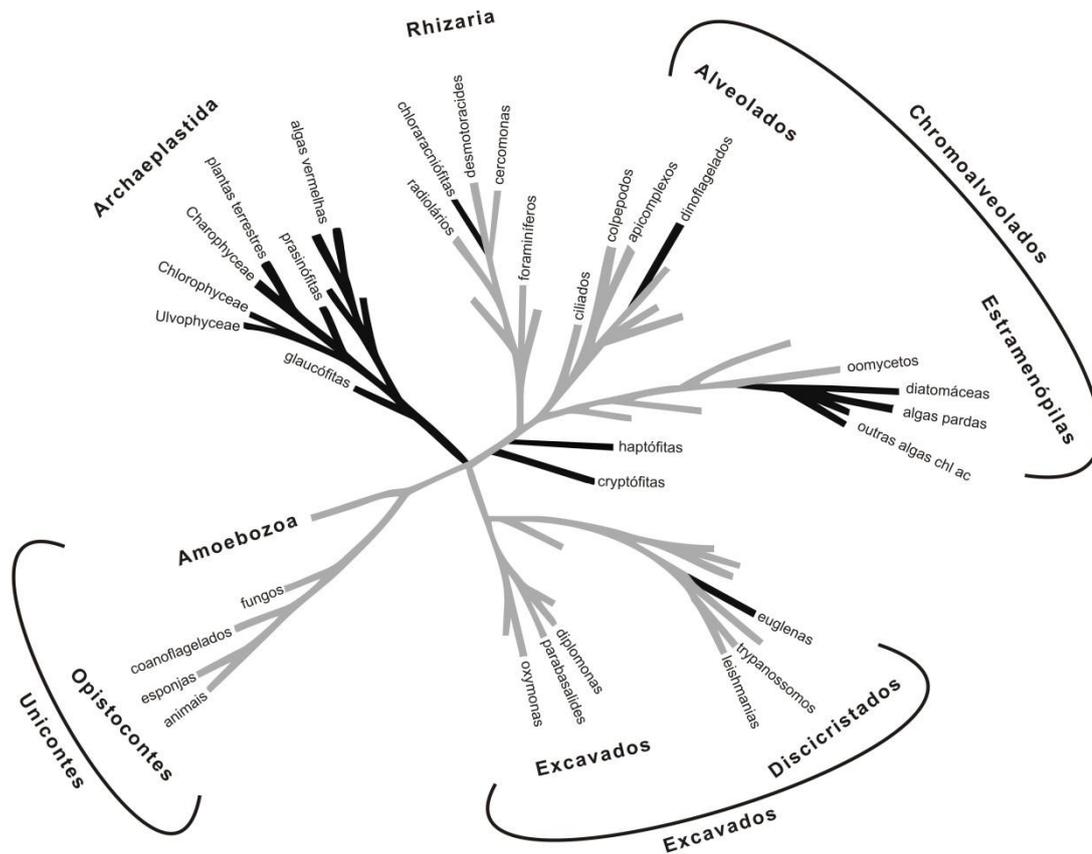


Figura 2: Árvore filogenética de Eukarya, mostrando os grandes grupos. Modificado de Baudalf (2008).

Endossimbiose primária

Todos os organismos que fazem fotossíntese oxigênica possuem clorofila *a* como molécula principal para captação luz. Essa molécula está associada a um sistema químico e fotoquímico tão complexo que chega a ser inconcebível a ideia de que ela possa ter surgido mais de uma vez no planeta. Já foi dito anteriormente que a clorofila *a* surgiu nas cianobactérias, antes do aparecimento do primeiro eucarionte e que existem evidências que sugerem veementemente que o cloroplasto dos organismos eucariontes surgiu com a endossimbiose de uma cianobactéria dentro de uma célula eucarionte hospedeira. Com isso, o que prova que a endossimbiose primária ocorreu apenas uma vez é a origem única da clorofila *a* das cianobactérias.

O cloroplasto dos eucariontes que evoluíram da endossimbiose de uma cianobactéria possui duas membranas. Esses cloroplastos são chamados de primários ou simples. Existem duas explicações para a presença dessas duas membranas. A hipótese mais comum é que a membrana interna era a membrana plasmática da cianobactéria, enquanto que a membrana mais externa é do fagossomo (vacúolo digestivo) da célula eucarionte. A outra explicação é que tanto a membrana interna como a externa pertenciam à cianobactéria original. Neste caso, assume-se que a membrana do fagossomo foi perdida. As cianobactérias são bactérias gram-negativas, isto é, possuem parede celular constituída por uma camada de peptidoglicano, envolvendo a membrana plasmática, e externamente a essa camada há outra membrana lipoprotéica. Durante a evolução dos cloroplastos, a camada de peptidoglicano foi perdida, mantendo-se as duas camadas lipoproteicas - a membrana plasmática e a membrana lipoproteica mais externa da parede celular (Figura 3a).

De modo geral, a endossimbiose ocorre de forma bem corriqueira no planeta. Vários casos podem ser citados, o mais comum é dos recifes de corais. Os corais são cnidários que possuem dentro de suas células endossimbiontes que são dinoflagelados, chamados zooxantelas. São as zooxantelas que promovem as cores dos corais. Elas realizam fotossíntese e fornecem alimento para os cnidários, que por sua vez, fornecem abrigo para elas. Quando há um desequilíbrio ambiental,



seja por poluição ou aumento da temperatura da água, os cnidários expulsam as zooxantelas de suas células, o que provoca o branqueamento dos corais. No caso das plantas e das algas, elas não são capazes de expulsar os cloroplastos de suas células. Ao longo da coevolução das células vegetais e dos cloroplastos ocorreu uma transferência lateral de genes. Ou seja, genes que pertenciam à cianobactéria foram transferidos para o núcleo da célula hospedeira. Esta, por sua vez, passou a produzir as proteínas importantes para a vida da cianobactéria, tornando-a dependente da célula hospedeira (Figura 3b). Se a transferência lateral de genes não tivesse ocorrido, provavelmente a cianobactéria não iria coevoluir para o cloroplasto da célula vegetal.

A célula hospedeira ancestral, que adquiriu o cloroplasto primário, deu origem a três linhagens bem definidas: as glaucófitas, as algas vermelhas e as algas verdes (que inclui as plantas terrestres). Esses três grupos formam uma linhagem monofilética chamada Archaeplastida. As glaucófitas constituem um pequeno grupo de algas unicelulares de água doce. O cloroplasto das glaucófitas, chamado de cianela, agrega várias evidências da endossimbiose primária. As cianelas ainda mantêm vestígios da camada de peptidoglicano (componente da parede celular da cianobactéria) entre as duas membranas. Os cloroplastos das algas vermelhas e as cianelas possuem pigmentos para captação de luz semelhante ao das cianobactérias atuais (clorofila *a* e ficobiliproteínas). As algas verdes, grupo diverso que inclui desde organismos unicelulares até as plantas terrestres, possui o cloroplasto mais diferenciado das cianobactérias. Esses cloroplastos perderam as ficobiliproteínas, desenvolveram a clorofila *b* e possui um complexo de membrana formando os tilacóides (Figura 3c). Todos os outros organismos fotossintetizantes adquiriram cloroplasto a partir de um eucarionte da linhagem Archaeplastida e não de uma cianobactéria. Esse evento é chamado de endossimbiose secundária.

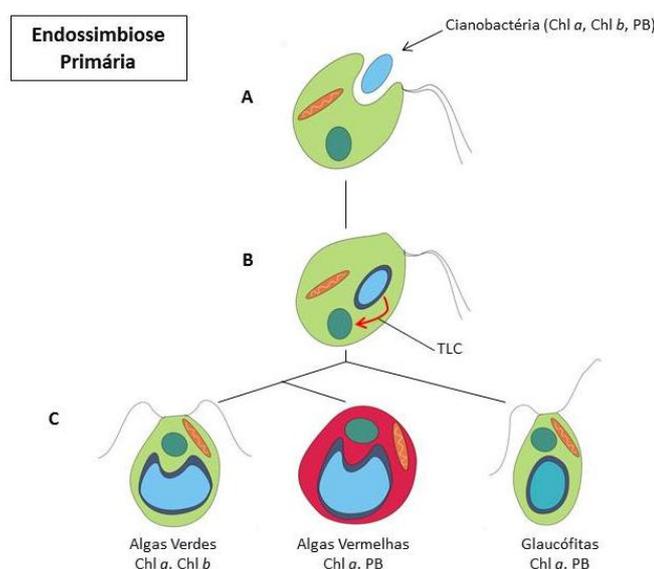


Figura 3: Representação esquemática da evolução do cloroplasto através da Endossimbiose Primária. Chl *a*: clorofila *a*, Chl *b*: clorofila *b*, PB: ficobiliproteínas, TLC: Transferência lateral de genes. Modificado de Bellorin & Oliveira (2006).

Endossimbiose secundária

Como já foi dito anteriormente, todos os outros organismos fotossintetizantes, que não fazem parte do grupo Archaeplastida, não possuem cloroplasto originado da endossimbiose primária, ou seja, a partir de uma cianobactéria. O cloroplasto desses grupos se originou a partir de células eucariontes que já possuíam cloroplasto primário, é a chamada endossimbiose secundária. Diferente da endossimbiose primária, que ocorreu apenas uma vez na história da evolução, a endossimbiose secundária ocorreu diversas vezes, em vários grupos diferentes. Os grupos que possuem cloroplastos secundários são: euglenófitas, dinoflagelados, algas heterocontes (diatomáceas e algas pardas), haptófitas, criptófitas, apicomplexas e “cloraraquiniófitas”.

A primeira evidência que indica a endossimbiose secundária é a presença de mais de duas membranas nos cloroplastos desses grupos. As euglenas e os dinoflagelados possuem três membranas e as algas heterocontes, as haptófitas, as criptófitas, os apicomplexas e as “cloraraquiniófitas” possuem quatro membranas (Tabela 1). Outra evidência consistente da endossimbiose secundária é a presença do núcleo vestigial (chamado de nucleomorfo) do eucarionte endossimbionte, presente nos grupos “cloraraquiniófitas”, criptófitas, haptófitas e heterocontes.



A explicação para as mais de duas camadas do cloroplasto secundário é que as duas camadas mais internas pertencem ao cloroplasto primário, a terceira camada mais interna seria correspondente à membrana plasmática do eucarionte que foi engolfado e, por fim, a quarta camada, a mais externa, corresponde à membrana do fagossomo. No caso do cloroplasto com três membranas, é mais provável que o cloroplasto secundário tenha perdido uma das membranas, que possivelmente era a membrana plasmática do eucarionte endossimbionte.

Assim como na endossimbiose primária, para que o eucarionte hospedeiro e o eucarionte endossimbionte coevolam, foi necessário que a transferência lateral de genes tivesse ocorrido. Dessa vez, não apenas genes do genoma do cloroplasto primário do eucarionte endossimbionte tiveram que ser transferidos para o genoma nuclear do eucarionte hospedeiro, mas também genes nucleares do eucarionte endossimbionte tiveram que ser transferidos para o núcleo do hospedeiro.

Tabela 1: Tabela comparativa entre os grupos fotossintetizantes. Chl *a*: clorofila *a*, Chl *b*: clorofila *b*, Chl *c*: clorofila *c*, PB: ficobiliproteínas

	Membranas do cloroplasto	Nucleomorfo	Principais pigmentos
Endossimbiose Primária:			
Glaucófitas	2	Ausente	chl <i>a</i> , PB
Algas Vermelhas	2	Ausente	chl <i>a</i> , PB
Algas Verdes	2	Ausente	chl <i>a</i> , chl <i>b</i>
Endossimbiose Secundária:			
Cryptomonas	4	Presente	chl <i>a</i> , chl <i>c</i> , PB
Estramenópilas	4	Ausente	chl <i>a</i> , chl <i>c</i>
Haptófitas	4	Ausente	chl <i>a</i> , chl <i>c</i>
Dinoflagelados	3	Ausente	chl <i>a</i> , chl <i>c</i>
Chlorarachniófitas	4	Presente	chl <i>a</i> , chl <i>b</i>
Euglenas	3	Ausente	chl <i>a</i> , chl <i>b</i>
Apicomplexos	4	Ausente	não fotossintetizante

Os eucariotos que possuem cloroplastos secundários são tão diversos, assim como esses cloroplastos são diversos entre si, que é bem aceito que a endossimbiose secundária tenha ocorrido algumas vezes. Existem dois principais tipos de cloroplastos secundários: aqueles derivados da endossimbiose de alga verde e aqueles derivados de alga vermelha. A endossimbiose por alga verde ocorreu duas vezes de forma independente na história da evolução. Desses dois eventos, foram originadas as linhagens das “cloraraquiniófitas” e das euglenófitas fotossintetizantes (Figura 4a). A endossimbiose por uma alga vermelha é mais complexa, pois não se sabe ainda se esse evento ocorreu apenas uma vez ou mais de uma. No cenário atual, é mais parcimoniosa a ocorrência de uma única endossimbiose secundária de uma alga vermelha, que ramificou para os dinoflagelados, algas heterocontes, haptófitas, criptófitas e apicomplexas.

Os cloroplastos originados pela endossimbiose secundária de uma alga verde possuem clorofila *a* e *b* (Figura 4b, c). As “cloraraquiniófitas” guardam bastante evidência sobre a endossimbiose secundária. Esses organismos pertencem à linhagem Cercozoa e existem poucas espécies reconhecidas. O cloroplasto possui quatro membranas, um citoplasma vestigial com ribossomos funcionais, um nucleomorfo e o cloroplasto primário do eucarionte endossimbionte.

As euglenófitas fotossintetizantes pertencem ao grupo dos Excavados e não são evolutivamente próximas às “cloraraquiniófitas”, o que corrobora a hipótese de que ocorreram duas endossimbioses secundárias de alga verde. Além disso, apenas uma parte das euglenófitas possui cloroplasto, indicando que a endossimbiose não ocorreu no ancestral comum do grupo, mas sim durante a sua diversificação. Inicialmente, acreditava-se que o cloroplasto das euglenófitas



havia sido originado por uma endossimbiose primária, pois são bastante reduzidos. Esse cloroplasto possui três membranas e não possui nucleomorfo, restando apenas o cloroplasto primário do eucarionte endossimbionte.

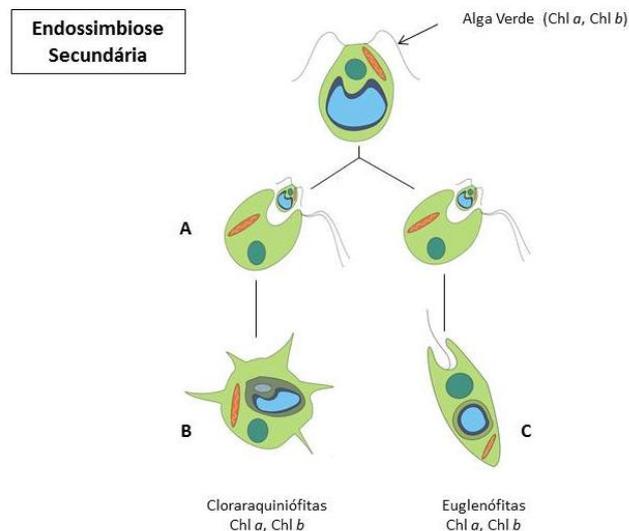


Figura 4: Representação esquemática da evolução do cloroplasto através da Endossimbiose Secundária por uma alga verde. Chl *a*: clorofila *a*, Chl *b*: clorofila *b*. Modificado de Bellorin & Oliveira (2006).

Uma origem do cloroplasto a partir de uma alga vermelha foi proposta inicialmente com os cloroplastos das criptófitas, que são as únicas algas que possuem cloroplasto com ficobiliproteínas e mais de duas membranas. Esses cloroplastos também possuem clorofila *c*, pigmento também encontrado nos cloroplastos das algas heterocontes, haptófitas e dinoflagelados. A hipótese mais parcimoniosa é que a endossimbiose de uma alga vermelha ocorreu apenas uma vez na história evolutiva e que desse ancestral, divergiu o grupo conhecido como Chromoalveolados (Figura 5).

As criptófitas são organismos unicelulares marinhos ou de água doce. O cloroplasto secundário desse grupo tem quatro membranas, possui um citoplasma vestigial com ribossomos que podem armazenar reserva de amido. Há também um nucleomorfo e o cloroplasto primário contém tilacóides. Como já foi dito, além das clorofilas *a* e *c*, estão presentes ficobiliproteínas, pigmento presente nas algas vermelhas. A membrana mais externa do cloroplasto secundário é contínua com as membranas do retículo endoplasmático que envolve o núcleo.

As algas heterocontes e as haptófitas possuem o cloroplasto com quatro membranas e são muito semelhantes (Figura 5b). Perderam o nucleomorfo, mas estão localizadas no lúmen do retículo endoplasmático. Possuem clorofila *a* e *c*, mas perderam as ficobiliproteínas. As algas heterocontes constituem o mais diverso grupo de algas, que possui desde organismos unicelulares presentes no picoplâncton até complexas macroalgas que chegam a muitos metros de tamanhos, as chamadas *kelps*.

Uma história evolutiva mais confusa é a dos alveolados (Figura 5c). Dentro desse grupo estão os dinoflagelados, onde metade faz fotossíntese e a outra não. O cloroplasto dos dinoflagelados fotossintetizantes possuem três membranas, não possui nucleomorfo e contém clorofila *a* e *c*. Estudos indicam que a metade heterotrófica dos dinoflagelados perdeu o cloroplasto ao longo da evolução.

O caso mais surpreendente da evolução dos cloroplastos são os apicomplexas. Todos os apicomplexas são heterotróficos e muitos estão associados a doenças animais. Eles possuem um cloroplasto não fotossintetizante e reduzido de quatro membranas, que são chamados de apicoplastos. Esses cloroplastos perderam totalmente a capacidade de fotossíntese, mas os vestígios de um ancestral fotossintetizante ainda estão presentes.

A situação filogenética dos chromoalveolados ainda é duvidosa e pouco resolvida. A hipótese mais parcimoniosa sugere um evento único de uma endossimbiose secundária de uma alga vermelha, que coevoluiu, divergindo para os grupos das criptófitas, haptófitas, alveolados e estramenópilas. Ao longo da evolução, grande parte das espécies desses grupos perdeu o cloroplasto, ou a capacidade de fazer fotossíntese.

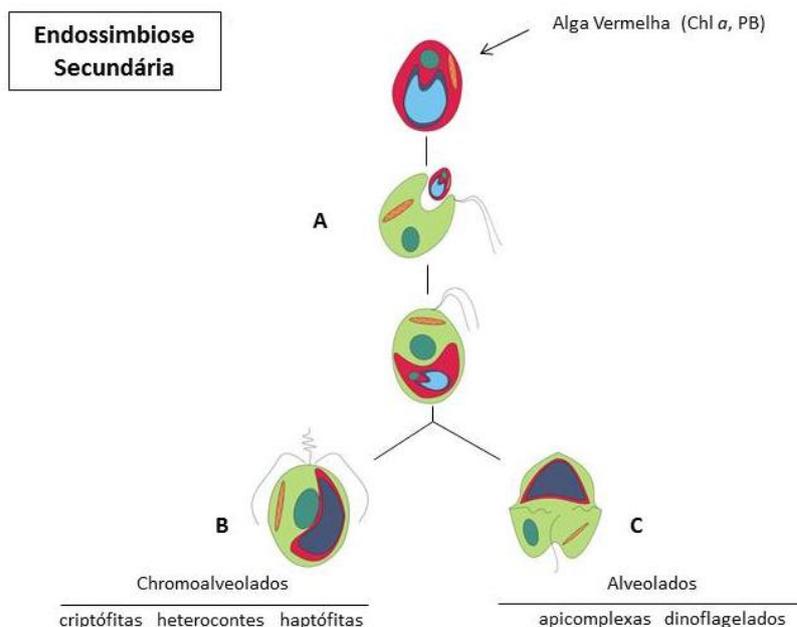


Figura 5: Representação esquemática da evolução do cloroplasto através da Endossimbiose Secundária por uma alga vermelha. Chl *a*: clorofila *a*, PB: ficobiliproteínas. Modificado de Bellorin & Oliveira (2006).

Referências bibliográficas

Baldauf SL. (2008). An overview of the phylogeny and diversity of eukaryotes. **Journal of Systematics and Evolution** 46(3): 263-273.

Bellorin AM; Oliveira MC. (2006) Plastid Origin: a Driving Force for the Evolution of Algae. In: A K Sharma, A Sharma. (Org.). **Plant Genome, Biodiversity and Evolution**. 1 ed. Enfield (NH): Science Publishers. Vol. 2B: 39-87.

Graham LE; Graham JM; Wilcox LW. (2009) **Algae**. 2. ed. **Pearson Benjamin Cummings**. 616 p.

Lee RE. (2008) **Phycology**. 4 ed. **Cambridge University Press**. 547 p.



Anotações:



Biodiversidade e Ecologia de Macroalgas Marinhas Brasileiras

Carolina A. A. Azevedo

Fábio Nauer

1. O que são algas?

As algas não constituem uma categoria taxonômica definida, e sim um agrupamento de organismos com características e históricos evolutivos diferentes, e que, portanto, são classificados em reinos distintos. Em geral, o termo **alga** é empregado para designar organismos fotossintetizantes, que contêm clorofila a como principal pigmento fotossintético, uni ou multicelulares, procariotos ou eucariotos, predominantemente aquáticos, cujo talo não apresenta diferenciação em raiz, caule ou folhas.

As **macroalgas**, por sua vez, são as algas macroscópicas, ou seja, organismos multicelulares que podem ser visualizados a olho nu, encontrados em ambientes aquáticos marinhos e continentais. As macroalgas podem ser organismos simples de corpo chamado acelular, ou podem ser constituídas por várias células agregadas, que formam estruturas consideradas tecidos simples.

2. Variedade de cores, tamanhos e formas das algas.

2.1 Cores:

Desde o século XIX, as algas são classificadas em três grandes grupos ou filos de acordo com a coloração do talo: **Rhodophyta** (algas vermelhas), **Chlorophyta** (algas verdes) e **Ochrophyta** (algas pardas). No entanto, outros aspectos contribuem para as diferenças entre esses grupos, entre os quais é possível citar concentração de pigmentos, substâncias de reserva, composição da parede celular, presença ou ausência de flagelos, ultra-estrutura da mitose, conexões entre células adjacentes e ultra-estrutura dos cloroplastos (**Tabela 1**).

Considerando a concentração de pigmentos, este aspecto pode variar inclusive dentro de um mesmo grupo, de acordo com a espécie ou com as condições ambientais. Os representantes de Rhodophyta, por exemplo, podem exibir diversas colorações, como amarelada, azulada, esverdeada, amarronzada e enegrecida. Além de pardas, as algas do filo Ochrophyta podem ser amareladas, douradas e até iridescentes.



Tabela 1: Principais características dos três grandes grupos de algas.

Característica	Rhodophyta	Chlorophyta	Ochrophyta
Clorofilas	a	a, b	a, c1, c2
Ficobilinas	b-ficocianina b-ficoeritrina c-ficocianina c-aloficocianina c-ficoeritrina		
Carotenóides	β -caroteno Zeaxantina Antheraxantina Luteína	β -caroteno Luteína Violaxantina Zeaxantina	β -caroteno Fucoxantina Violaxantina Zeaxantina
Substância de reserva	Amido das florídeas	Amido	Laminarina Manitol
Parede celular	Celulose Agar Carragenana	Celulose	Celulose Ácido Algínico
Flagelos	Ausentes	Presentes em algumas fases;	Presente em gametas e/ou esporos;
Cloroplastos	Número variável; Ovais, discóides ou estrelados;	Número variável; Discóides, reticulados, estrelados, laminares, em forma de fita etc.	Número variável Estrelados, cilíndricos ou lenticulados.

Os estudos filogenéticos mais recentes apontam que esses grupos se originaram por duas vias diferentes na cadeia evolutiva, sendo que as algas vermelhas e verdes são resultado de um processo de endossimbiose primária, enquanto que as algas pardas se originaram por endossimbiose secundária. Por essa razão, Rhodophyta e Chlorophyta são classificadas no reino Plantae, e Ochrophyta está incluída no reino Chromista.



2.2 Tamanhos:

As algas ocorrem em tamanhos variados, desde formas microscópicas até algas com mais de 60 m de comprimento, que são chamadas *kelps*.

2.3 Formas:

A forma básica de uma alga é o **talo**, entendido como um corpo vegetativo simples, relativamente indiferenciado. Os talos variam em complexidade, desde filamentos ramificados simples, até agregações de filamentos ramificados que são chamados **pseudoparênquima**, pois se parecem com tecidos verdadeiros. No caso das algas pardas, são observados talos **parenquimatosos**, pois suas células se dividem em mais de um plano.

Os talos das algas podem ser de diversas formas, tais como:

- (a) **Foliáceos laminares**: não são constituídos por medula nem córtex, e sim por algumas camadas de células, que exibem uma alta taxa área/volume. Ex.: *Ulva* e *Porphyra*;
- (b) **Foliáceos corticados**: apresentam medula e córtex diferenciados. Ex.: *Dictyota* e *Padina*;
- (c) **Filamentosos**: talos compostos por fileira única de células. Ex.: *Cladophora* e *Griffithsia*;
- (d) **Filamentosos corticados**: talos filamentosos que apresentam córtex diferenciado. Ex.: *Ceramium* e *Centroceras*.
- (e) **Cilíndricos**: talos de forma cilíndrica, com medula e córtex diferenciados. Ex.: *Gracilaria* e *Gelidium*;
- (f) **Globosos**: talos de formato esférico. Ex.: *Ventricaria* e *Valonia*;
- (g) **Aspecto de rede**: talos cujos filamentos se desenvolvem formando estruturas semelhantes a redes. Ex.: *Microdyction*;
- (h) **Calcários articulados**: talos eretos com segmentos recobertos por carbonato de cálcio. Ex.: *Jania* e *Halimeda*;
- (i) **Crostosos**: talos calcificados ou não, que se desenvolvem com aspecto de crosta que recobre o substrato. Ex.: *Hildenbrandia* e *Ralfsia*;
- (j) **Cenocíticos**: compostos por um aglomerado de núcleos e cloroplastos, como se fossem células gigantes. São também chamados de talos acelulares. Ex.: *Codium* e *Caulerpa*.

1



2





Figuras 1-6: Exemplos de Algas Marinha. Figura 1. Alga parda *Padina*, que possui forma foliácea. Figura 2. Alga parda *Spatoglossum*. Figura 3. Alga verde *Chaetomorpha*, que possui forma filamentosa. Figura 4. Alga verde *Caulerpa*, que possui forma cenocítica. Figura 5. Alga vermelha *Ceramium*, que possui forma filamentosa cortiçada. Figura 6. Alga vermelha *Gracilaria*, exemplo de forma cilíndrica.

3. Biologia Molecular como Ferramenta para Estudos de Biodiversidade de Algas

Apesar da grande variedade de formas, as algas são organismos morfologicamente simples, se comparadas às plantas vasculares. Além disso, exibem uma grande plasticidade fenotípica, isto é, um alto grau de variação morfológica entre os indivíduos de uma mesma espécie, fortemente influenciada pelas condições ambientais, o que resulta em grande confusão taxonômica e problemas de separação de espécies. Em virtude disso, é crescente o uso da biologia molecular como ferramenta para estudos taxonômicos e filogenéticos de algas.

Atualmente, a técnica de *DNA barcoding* é a mais utilizada pelos taxonomistas. Essa técnica consiste na utilização de fragmentos conservados relativamente curtos do genoma do organismo, que são variáveis o suficiente para distinguir espécies. Essas sequências de DNA correspondem aos códigos de barra utilizados em produtos comerciais. O uso da biologia molecular é considerado essencial em estudos taxonômicos, desde que associado aos estudos morfológicos.

4. Fatores que determinam a ocorrência e a distribuição das macroalgas.

As macroalgas ocorrem na natureza tanto em ambientes tropicais quanto temperados, e são os principais componentes das comunidades de meso e infralitoral. As macroalgas ocorrem em diversos tipos de hábitat, tais como costões rochosos, manguezais, lagunas costeiras de água salobra, atóis, bancos arenosos, bancos arenolodosos, bancos de rodolitos, bancos de fanerógamas, recifes de coral, recifes de arenito, estuários e substratos artificiais. Os principais fatores que influenciam a ocorrência e distribuição de algas podem ser classificados em:



(a) **Fatores físicos:** disponibilidade e tipo de substrato, temperatura, luminosidade, variação de marés e intensidade de ondas;

(b) **Fatores químicos:** salinidade, disponibilidade de nutrientes e pH;

(c) **Fatores biológicos:** herbivoria, competição, epifitismo, parasitismo, biota associada e doenças;

(d) **Fatores artificiais:** coleta para fins comerciais, coleta para fins científicos, pisoteio, contaminação por efluentes.

As macroalgas de maior porte e complexidade ocorrem ao longo da zona costeira rochosa. Em costões rochosos, durante marés baixas, é possível visualizar as faixas de diferentes composições de algas, o que é resultado das diferenças entre as espécies em relação à sua capacidade de sobreviver à exposição atmosférica. As algas que habitam a zona entremarés são diariamente expostas a grandes variações de umidade, temperatura, salinidade, luz e movimentação da água. Além disso, são consumidas por uma grande variedade de herbívoros, como peixes, ouriços-do-mar, moluscos e tartarugas marinhas. Dessa forma, as características específicas de bioquímica, estrutura e histórico de vida são resultados de adaptação a todos esses aspectos físicos e biológicos.

5. Diversidade de macroalgas no mundo e no Brasil:

Há aproximadamente 11500 espécies de macroalgas descritas no mundo todo, sendo 6215 algas vermelhas, 1792 algas pardas e 3491 algas verdes. Em nível mundial, não se observa um padrão de diversidade de macroalgas em relação à latitude, ou seja, em diferentes litorais, a riqueza pode aumentar ou diminuir em direção ao Equador, ou mesmo alcançar níveis máximos em latitudes intermediárias. Dessa forma, várias regiões temperadas apresentam diversidade de algas superior a algumas regiões tropicais. A ausência de padrão pode ser explicada pela influência de fatores locais, como pressão de herbivoria, ausência de substrato, turbidez da água e correntes marítimas.

No Brasil, há registro de aproximadamente 650 espécies de macroalgas marinhas bentônicas. Atualmente, é aceito que o país apresenta três zonas que diferem quanto à diversidade e composição de algas, a saber:

(a) **Zona tropical:** corresponde aos litorais das regiões norte e nordeste. A região nordeste apresenta flora marinha rica, em virtude da disponibilidade de substratos adequados e da transparência da água;

(b) **Zona de transição:** constituída pelo Estado do Espírito Santo, esta zona apresenta a flora marinha mais diversa do país, o que é atribuído à heterogeneidade ambiental, à elevada transparência da água e à influência da ressurgência de Cabo Frio;

(c) **Zona temperada quente:** abrange os litorais das regiões sudeste e sul. Esta zona apresenta elevada diversidade em áreas com abundância de costões rochosos, que se constitui em substrato propício às algas. No entanto, a diversidade é baixa em regiões onde predominam as praias arenosas.

6. Importância ecológica das macroalgas:

A importância ecológica das algas pode ser resumida em quatro aspectos principais:

(a) **Produção primária:** são organismos fotossintetizantes, portanto contribuem significativamente para a produção de oxigênio, o qual é essencial à sobrevivência dos animais;

(b) **Alimento para herbívoros:** diversos organismos aquáticos, como peixes, crustáceos, mamíferos e moluscos se alimentam de algas;

(c) **Habitat para animais:** várias espécies de vertebrados e invertebrados utilizam os bancos de algas, ou mesmo a estrutura do talo, como locais para abrigo e reprodução;



(d) **Bioconstrução:** as algas calcárias são chamadas de organismos bioconstrutores, pois apresentam carbonato de cálcio em sua estrutura, o qual, quando depositado, contribui para a estruturação do hábitat.

7. Metodologias de estudos sobre ecologia de macroalgas:

Os estudos ecológicos sobre macroalgas são realizados com uso de metodologias destrutivas e não-destrutivas.

(a) **Métodos destrutivos:** as amostragens destrutivas envolvem a retirada dos organismos de seu hábitat;

(b) **Métodos não-destrutivos:** em amostragens não-destrutivas os organismos não são retirados do ambiente, e sim registrados através de anotações, fotografias ou filmagens.

8. Importância econômica:

Os registros apontam que as macroalgas têm sido utilizadas pelas civilizações orientais desde antes de Cristo. Atualmente, as algas são utilizadas pela humanidade para diversas finalidades:

(a) **Alimentação humana:** consumidas principalmente na culinária oriental, como saladas, sopas, *sushi*, entre outros.

(b) **Produção de compostos bioativos:** os ficocolóides são largamente utilizados como espessantes e estabilizantes no preparo de gelatinas, pudins, sorvetes, cremes, sucos e sopas, e na produção de pastas dentais, *shampoos*, produtos cosméticos e cápsulas de medicamentos. São também utilizados como meio de cultura em microbiologia. Além disso, as algas produzem compostos químicos com ação anti-viral, vermífuga, anti-coagulante etc;

(c) **Uso como fertilizantes:** algumas espécies de algas são utilizadas como fontes de nutrientes e substâncias fungicidas em cultivos agrícolas, o que contribui para o incremento da produção. As algas calcárias, por apresentarem carbonato de cálcio em sua estrutura, também são utilizadas na agricultura para correção de solos ácidos;

(d) **Alimentação animal:** atividades pecuárias e aquícolas utilizam ração a base de algas como alimento animal.

9. Ameaças à biodiversidade:

Alguns aspectos antropogênicos se constituem em perturbações ao ambiente marinho e, portanto, são considerados danosos à biodiversidade, tais como:

- (a) Turismo e lazer desordenados;
- (b) Navegação;
- (c) Introdução de espécies exóticas;
- (d) Sobre-exploração de recursos;
- (e) Descarga de efluentes contaminados;
- (f) Exploração petrolífera.

Referências bibliográficas

Graham LE; Graham J.M; Wilcox LW.(2009) Algae. 2. ed. **Pearson Benjamin Cummings**.



Guiry MD (2011) The seaweed site: information on marine algae (Online). Acesso em 02 de junho de 2012.

Lee RE. (2008) Phycology. 4ª ed. **Cambridge University Press**.

Paula EJ; Plastino EM; Oliveira EC; Berchez F; Chow F; Oliveira MC. (2007) Introdução à Biologia das Criptógamas. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, São Paulo, SP.

Pedrini AG. 2010. Pedrini AG (Org.) (2010) Macroalgas – Uma Introdução à Taxonomia. Série Flora Marinha do Brasil, vol 1, 1ª ed. **Technical Books Editora**.

Santelices B; Bolton JJ; Meneses I. (2009) Marine Algal Communities. In : Witman JD; Roy K. (Eds). Marine Macroecology. **The University of Chicago Press**.



Anotações:



Taxonomia: Princípios e Métodos

Marcelo F. Devecchi

Jenifer C. Lopes

Juliana Lovo

A sistemática, frequentemente utilizada como equivalente de taxonomia, é considerada a ciência da diversidade dos organismos. Este campo da ciência é responsável pela descoberta, descrição e interpretação da diversidade biológica existente. Desta forma, toda a síntese de informação sobre os organismos é ordenada na forma de sistemas de classificação que buscam ser preditivos possibilitando a nossa compreensão sobre a vida e o mundo que nos rodeia. A taxonomia pode ser considerada o ramo mais antigo da Biologia, já que é necessário nomear e reconhecer antes de estudar mais a fundo os organismos (Blackwelder 1940). De fato, o conhecimento da diversidade biológica parece ser tão antigo quanto o próprio conhecimento humano. A Gênese, por exemplo, é um dos exemplos mais antigos conhecidos de preocupação formal do homem na elaboração de nomes para os organismos (Amorim 2002).

A sistemática como a ciência da diversidade orgânica inclui quatro componentes básicos que são **descrição**, **identificação**, tratados a seguir, **nomenclatura** e **classificação** tratados em tópicos separados.

A descrição, item importante no registro da biodiversidade é produzida em forma escrita pela listagem detalhada de todos os atributos estruturais, sendo iniciada pelos órgãos vegetativos: raiz, caule e folhas, seguidos pelos reprodutivos: flores, frutos e sementes.

Já a identificação é o processo de associação de uma entidade desconhecida com uma entidade conhecida, ou o reconhecimento de que a entidade desconhecida em questão ainda não é conhecida pela comunidade científica.

O reconhecimento de que uma planta pertence a determinado táxon (identificação) envolve o uso de chaves de identificação, que usa determinadas características das plantas para seu reconhecimento. Deve ser iniciado pela identificação da família, depois gênero e por fim espécie. Uma segunda maneira de identificação é a comparação dos caracteres da planta desconhecida com descrições de possíveis táxons conhecidos que possam ser o mesmo. Um outro método é a comparação de espécimes, no qual a planta que se deseja identificar é comparada com plantas já identificadas vivas ou depositadas em herbários. Apesar de ser um método eficiente deve se levar em consideração a confiabilidade da identificação dos espécimes da coleção para que não seja feito apenas a duplicação de uma identificação errônea. Por isso é importante a utilização de materiais identificados por especialistas do grupo em questão.

Outro aspecto importante para a sistematização da biodiversidade é a nomeação dos organismos descritos. O nome de um organismo funciona como um indexador de todo o conhecimento acerca dele. Todo o conhecimento disponível para este organismo pode ser acessado pelo seu nome, que deve ser único.

Em suma, diante da grande variedade de formas de vida do nosso planeta, os principais desafios da Sistemática são:

- Descrever a diversidade das formas de vida do nosso planeta;
- Auxiliar na compreensão dos processos responsáveis pela geração desta diversidade;
- Sintetizar todo o conhecimento acerca dos grupos descobertos e estudados em sistemas de referência sobre a diversidade biológica que permitam acesso a ela.

Nomenclatura Botânica

A aplicação de nomes científicos é a primeira finalidade da nomenclatura biológica, por permitir a *comunicação*. Além disso, o nome de um táxon é extremamente importante, pois ele nos dá *acesso à informação disponível* sobre os organismos. Com a descrição de grupos de organismos, a atribuição de nomes é também fundamental para sua *ordenação dentro de um sistema de classificação*.

No caso das plantas, o sistema nomenclatural possui um conjunto de regras específicas e compreendem a Nomenclatura Botânica, a qual é regida de forma independente da zoológica. A criação do Código Internacional de Nomenclatura Botânica em 1867 foi fundamental para conferir uma certa estabilidade e universalidade aos nomes



científicos. O nome de um táxon não deve ser atribuído arbitrariamente, ele deve estar de acordo com as normas de nomenclatura, e é organizado segundo **princípios, regras e recomendações**.

O Código é um sistema dinâmico, sujeito a modificação e sua publicação é feita durante os Congressos Internacionais de Botânica, realizados a cada seis anos. O código vigente é o recentemente atualizado no congresso de Melbourne, Austrália, em 2011. O código provê um sistema de nomenclatura precisa e simples, capaz de ser usado por botânicos em todos os países. A adoção do nome científico para um dado táxon não deve permitir ambiguidade e deve indicar a categoria taxonômica a qual ele pertence.

Princípios

São seis princípios que constituem a base do sistema de nomenclatura botânica e são a única parte *imutável* do Código:

- I. A nomenclatura botânica é independente da nomenclatura zoológica e bacteriológica. O código aplica-se, igualmente, aos nomes de grupos taxonômicos tratados como plantas, tenham eles sido ou não originalmente tratados como tais.
- II. A aplicação de nomes para grupos taxonômicos é feita através de tipos nomenclaturais.
- III. A nomenclatura de um grupo taxonômico está baseada na prioridade de publicação.
- IV. Cada grupo taxonômico com circunscrição, posição e nível próprios pode ter somente um nome correto, qual seja, o mais antigo que esteja de acordo com as Regras, exceto em casos especificados.
- V. Nomes científicos de grupos taxonômicos são tratados em latim, independentemente de sua derivação.
- VI. As regras de nomenclatura são retroativas, a menos que sejam expressamente limitadas.

Regras

Estão organizadas em **artigos** que têm por objetivo reger os nomes já existentes e orientar a criação de novos. Os artigos são um detalhamento dos princípios e um procedimento que está contra uma regra, está contra o Código.

Exemplos de regras:

- a) As terminações dos nomes designam as categorias taxonômicas em Angiospermas
- b) O nome científico de uma planta é uma combinação de dois nomes (binômio), o primeiro referente ao gênero e o segundo, ao epíteto específico. Os nomes científicos devem ser acompanhados pelo nome do autor da espécie e sempre estar destacado no texto. Ex. *Lupinus coriaceus* Benth.

Recomendações

Tratam de pontos secundários e indicam a melhor forma de escolha de um nome. As recomendações também detalham os princípios e um procedimento que está contra uma recomendação não constitui um bom exemplo a ser seguido.

Inicialmente, as plantas eram denominadas por longas sentenças descritivas até a proposta de uma nomenclatura binomial realizada por Gaspar Bauhin (1707-1778) e posterior implementação por Linnaeus (1707-1778) e aceita até os dias atuais.

A

hierarquia taxonômica do sistema de classificação botânica



As categorias taxonômicas são estabelecidas por características filogenéticas, sendo o reino a mais inclusiva e a de espécie a menos inclusiva, e são uma tentativa de ordenar a diversidade biológica conhecida em nosso planeta.

Nível hierárquico/ abreviações	Sufixo padrão	Exemplo
Reino	bionta	Chlorobionta
Divisão	phyta	Embryophyta
Classe – cl.	opsida	Equisetopsida
Subclasse	idae	Magnoliidae
Ordem – ord.	ales	Fabales
Família – fam.	aceae	Fabaceae
Subfamília	oideae	Papilionoideae
Tribo – tr.	eae	Genisteeae
Gênero – gen.	Nenhum; escrito em itálico, letra inicial maiúscula	<i>Lupinus</i>
Espécie – sp.	Nenhum; nome genérico e específico em itálico	<i>L. parvifolius</i>

O ponto inicial de reconhecimento dos nomes válidos para a maioria das plantas é 1º de maio de 1753, data de publicação do *Species Plantarum* por Linnaeus.

A classificação dos seres vivos

Ao longo da história, os cientistas buscaram determinar a melhor forma para classificar os seres vivos. Os primeiros sistemas de classificação têm suas origens na Grécia Antiga, e eram baseados nos diferentes graus de similaridade de alguns poucos caracteres morfológicos. O uso dos termos gênero e espécie data desta época e era utilizado por Aristóteles (384 a.C.-322 a.C.) e Platão (428/427 a.C.-348-347 a.C.) na definição dos objetos. A definição das coisas é nada mais do que buscar a essência delas. A essência não está nos indivíduos, mas sim nas espécies. As **espécies** são classificadas em um determinado **gênero** e são diferenciadas das demais espécies do mesmo gênero pela *differentia*. O sistema de Carl F. Linnaeus (1707-1778) na obra "Species Plantarum" seguia este método, sua busca era a definição dos seres vivos. O sistema de Linnaeus é baseado principalmente em estruturas reprodutivas e por isso ficou conhecido como "sistema sexual". Tais sistemas tinham como objetivo agrupar as espécies em um número pré-determinado de famílias que, segundo o pensamento vigente na época, seguia uma ordem Divina. Após a publicação de "Origem das Espécies", em 1859, por Charles Darwin (1809-1882), há uma mudança de paradigma e a classificação passa a ter um significado completamente distinto. Sob a hipótese de descendência comum, postulada por Darwin, as classificações hierárquicas buscam retratar as relações evolutivas dos organismos. Neste novo sistema, a ancestralidade comum é o elemento ordenador da diversidade. Com isso, a construção de classificações é baseada em um sistema hierárquico composto de grupos grandes e inclusivos de organismos. Cada um destes comporta grupos menores, menos abrangentes, e assim por diante. Um exemplo deste sistema é o grande grupo do reino vegetal, que inclui todas as plantas verdes. Os grupos subsequentes, denominados filos, ordens, famílias, gêneros e espécies, são progressivamente menos inclusivos, ou seja, agrupam número cada vez menor de táxons. Desta forma, uma classificação baseada na filogenia dos organismos, permite buscarmos compreender a origem da diversidade e a ordem subjacente a ela.

A classificação das plantas é baseada em diversas fontes de evidências disponíveis. Essas podem ter diferentes origens, entre elas podemos citar os caracteres morfológicos, anatômicos, embriológicos, cromossômicos, palinológicos, químicos e moleculares. A obtenção destes dados se dá através da análise de amostras das plantas com emprego de metodologias apropriadas que vão desde observações da morfologia externa com uso de instrumentos ópticos até uso de técnicas no campo da biologia molecular através da comparação de marcadores moleculares para inferir relações de parentesco entre grupos de plantas.



Na sistemática moderna, as relações de parentesco entre as espécies e o posicionamento destas em um sistema classificatório são estabelecidos segundo os princípios da Sistemática Filogenética, a qual é baseada nos conceitos de monofilatismo e sinapomorfia (Hennig 1965, 1966). Grupos monofiléticos são aqueles constituídos por um ancestral comum e todos os seus descendentes e apenas estes (Futuyma 2005). Já a sinapomorfia representa uma apomorfia (novidade evolutiva) compartilhada por todos os membros de um grupo monofilético (Futuyma 2005).

Metodologia usada na Taxonomia Vegetal

O trabalho do sistemata inclui a produção de inventários florísticos e trabalhos mais aprofundados como a revisão sistemática de um grupo. Um inventário florístico visa o conhecimento da composição da vegetação de determinada área enquanto uma revisão taxonômica tem por objetivo um conhecimento mais aprofundado da taxonomia do grupo, com a delimitação das espécies.

As etapas do trabalho podem ser divididas em duas principais frentes: trabalho de campo e de laboratório. O trabalho de campo consiste em expedições para a coleta de amostras de plantas na natureza, e é a fonte inicial de material para a pesquisa.

1. Coleta do material botânico: A obtenção do material para pesquisa se dá pela coleta de pelo menos 5 ramos de um mesmo indivíduo ou se tratando de pequenas ervas, cinco indivíduos da mesma população. Informações importantes e que são perdidas com o processo de herborização devem ser anotadas, tais como altura da planta, cor da flor e junto com dados de localização constituirão uma ficha que será anexada a amostra (exsicata).
2. Preparação dos espécimes para herbário (herborização + prensagem + estufa): Para que as amostras possam ser depositadas em herbários é necessário que elas estejam totalmente secas, provendo assim sua conservação. Para isso, o material coletado é acomodado entre jornais e papelões e comprimidos numa prensa e levado a estufa (aprox. 70 °C) para serem secos.
3. Montagem das exsicatas com etiquetas: Após serem secas, as plantas são identificadas usando chaves de identificação, que podem ser obtidas em trabalhos de floras e revisões taxonômicas. Estes trabalhos geralmente também contêm descrições e ilustrações das espécies. É possível fazer a comparação com materiais depositadas no herbário já identificados por especialista do grupo. Após a identificação, as amostras são montadas em cartolinas na qual também é colado a etiqueta do espécime, no qual constam número do coletor e dados pertinentes do espécime como local onde a planta foi coleta e característica que são perdidas com a herborização.
4. Herbário: A partir destas amostras é possível realizar, por exemplo, trabalhos de flora, com o levantamento e descrição das espécies com suas características vegetativas e reprodutivas que ocorrem em determinada área.
5. Compilação e divulgação dos resultados: (chaves de identificação, descrições, ilustrações e dados biológicos, ecológicos e geográficos).

A botânica e a internet

Existem algumas ferramentas da internet que facilitam o trabalho na taxonomia. Um bom exemplo é a “lista de espécies da flora do Brasil”, encontrada no site do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (floradobrasil.jbrj.gov.br). Lá é possível verificar quais espécies de plantas ocorrem no país e em quais estados. Já nos sites do Índice internacional de nomes de plantas (ipni.org) e no do Jardim Botânico de Missouri (tropicos.org) é possível buscar a grafia correta dos nomes científicos e os autores destes nomes. Além desses, a Biblioteca do patrimônio da biodiversidade (biodiversitylibrary.org) e a biblioteca digital Botanicus (botanicus.org) são excelentes ferramentas para a pesquisa das obras antigas nas quais muitas espécies foram descritas.



Sistemática Filogenética

As primeiras relações filogenéticas dos grupos de plantas foram inferidas, especialmente, a partir de dados morfológicos, que constituem a estrutura principal da taxonomia. Porém, o uso de caracteres morfológicos para se determinar a história evolutiva de grupos de plantas tornou-se problemático devido ao número limitado de caracteres e a dificuldade dos pesquisadores em definir quais caracteres seriam mais apropriados para tal finalidade (Stevens 2000). A inferência das relações filogenéticas entre os táxons baseada apenas em caracteres aparentemente similares, muitas vezes implicava em erros, pois tais similaridades morfológicas representam frequentemente homoplasias ou adaptações de grupos de plantas distantes filogeneticamente. Ao contrário da homologia dos caracteres, essencial para a delimitação de grupos monofiléticos, os caracteres homoplásicos surgem várias vezes e de forma independente em táxons não relacionados em consequência da convergência ou da reversão evolutiva (Endress *et al.* 2000, Futuyma 2005, Judd *et al.* 2009).

Atualmente, tanto a delimitação das espécies quanto a definição do parentesco entre elas, são baseadas nas filogenias moleculares. Devido à geração de grande quantidade de dados em um período relativamente curto, os estudos moleculares têm mudado, de forma considerável, o posicionamento dos táxons de níveis mais elevados, como ordens e famílias (APG I 1998, APG II 2003, APG III 2009). Para alguns grupos vegetais, entretanto, os estudos moleculares serviram para corroborar as relações entre os táxons anteriormente sugeridas por estudos morfológicos comparativos (ver Endress *et al.* 2000).

Referências bibliográficas

- Amorim DS. (2002). **Elementos básicos de sistemática filogenética**. Holos Editora e Sociedade Brasileira de Entomologia. São Paulo.
- Blackwelder RE. (1940). Some Aspects of Modern Taxonomy. **Journal of the New York Entomology Society** 48: 245-257.
- Endress PK; Baas P; Gregory M. (2000). Systematic plant morphology and anatomy – 50 years of progress. **Taxon** 49: 401-434.
- Futuyma DJ. (2005). **Evolution**. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts. USA.
- Hennig W. (1965). Phylogenetic systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics** 10: 97-116.
- Hennig W. (1966). **Phylogenetic systematics**. University of Illinois Press, Urbana, IL.
- Judd WS; Campbell CS; Kellogg EA; Stevens PF; Donoghue MJ. (2009). **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3ª Ed. ARTMED, Porto Alegre, Brasil.
- Smith R. (2011). Aristotle's Logic. **The Stanford Encyclopedia of Philosophy**. <http://plato.stanford.edu/entries/aristotle-logic/>
- Stevens PF (2000). Botanical systematics 1950-2000: change, progress, or both? **Taxon** 49: 635-659.
- Wilkins, JS (2009). **Defining species: a sourcebook from antiquity to today**. New York: Peter Lang. 224p.



Anotações:



Ficocolóides: Polissacarídeos das Algas Marinhas

Janaína Pires Santos

Emmanuelle Silva Costa

As algas compreendem um grupo de organismos, os quais apresentam poucas características em comum, em especial o fato de serem predominantemente aquáticos e desprovidos de um tecido constituído de células estéreis envolvendo os órgãos de reprodução e de um sistema diferenciado para condução de água. Juntamente com um pequeno grupo de angiospermas aquáticas são consideradas produtores primários que sustentam a vida nos mares, oceanos entre outros diferentes ambientes hídricos, desempenhando um papel ecológico fundamental na manutenção destes ecossistemas.

São encontradas nos mais diversos ambientes, podendo ser identificadas formas terrestres, aquáticas, assim como formas que vivem em associações com outros organismos, a exemplo dos líquens que representam uma associação dos fungos com as algas. Dentre as diversas formas, as mais comuns são as de ambiente aquático, podendo ser rios, lagoas, mangues e mares. Nestes ambientes podem fazer parte do bentos (definido como o conjunto de indivíduos que vivem fixos ao substrato) ou plâncton (conjunto de indivíduos que vivem em suspensão na coluna de água devido a sua pequena ou nula capacidade de locomoção).

A Ficologia é a ciência que estuda as algas (phycos, do grego = alga), assim como a parte da biologia que engloba a maior diversidade de organismos (incluindo procariontes e eucariontes). Inicialmente a classificação das algas feita pelo Harvey em 1836 foi baseada na sua pigmentação, o que ainda é utilizada até os dias atuais. No entanto é sabido que devido a presença de outros pigmentos fotossintetizantes a exemplo dos carotenóides e xantofilas, esse critério muitas vezes pode induzir ao erro, confundindo o grupo quando separados com base na sua composição pigmentar.

Evolutivamente as algas não apresentam relações claras bem definidas, devido a carência de registros fósseis para boa parte dos grupos, a grande plasticidade fenotípica encontrada e a morfologia simples. Em busca de se resolver os problemas taxonômicos apresentados pelas algas, uma série de pesquisas foram desenvolvidas na busca de informações mais detalhadas e precisas sobre o grupo. Dentre esses avanços, foram obtidos imagens detalhadas de ultraestruturas das células, com o uso da microscopia eletrônica, assim como informações baseadas nas sequências moleculares com o uso de ferramentas moleculares essenciais para se estabelecer as hipóteses evolutivas das linhagens de algas, mostrando que esses organismos formam um grupo artificial incluindo táxons mais proximamente relacionados com organismos não fotossintetizantes do que com outras algas.

São organismos que desempenham um papel econômico bastante relevante, dada a produção de polissacarídeos presentes em suas paredes, os quais são utilizados com diversas finalidades, desde alimentação, na indústria farmacêutica, assim como fertilizantes. Nos países orientais o uso das algas no consumo direto pelo homem é uma prática bastante antiga, com evidências de seu uso no Japão há mais de 10.000 anos. E hoje em dia esse uso é bastante difundido, sendo alguns gêneros mais amplamente utilizados, a exemplo: *Porphyra*, *Eucheuma*, *Laminaria* e *Undaria*, oriundas de cultivo e bancos naturais.

A utilização das algas como fonte de alimentação, levou ao desenvolvimento de pesquisas acerca de sua composição química, comprovando que as mesmas possuem um conteúdo significativo de proteínas, vitaminas e sais minerais. Possuem uma grande quantidade de polissacarídeos que de modo geral não são digeridas pelos seres humanos. No entanto é comprovado que o consumo regular das algas proporcionam uma maior capacidade de digestibilidade.

As algas marinhas apresentam um conteúdo muito rico em proteínas, vitaminas, sais minerais e polissacarídeos, que são amplamente utilizados nas indústrias farmacêuticas, alimentícia e biotecnológica. Os ficocolóides são polissacarídeos coloidais presentes nas paredes das algas vermelhas ou pardas, que tem a propriedade de formar géis em solução aquosa. São classificados em três tipos principais: alginato, ágar e carragenana. De acordo com suas propriedades físicas, esses polissacarídeos terão diferentes tipos de emprego.

O uso das algas marinhas como fonte de ficocolóides data de 1968, quando as propriedades emulsificantes e estabilizantes do ágar extraído com água quente de uma alga vermelha, foram descobertas no Japão. Posteriormente outros extratos foram obtidos das algas pardas, em escala comercial devido a sua ação gelificante e em seguida vendidos. No entanto, foi a partir da Segunda Guerra Mundial que o uso industrial dos extratos de algas marinhas se expandiu largamente, sendo algumas vezes limitados devido a disponibilidade de matéria prima.

Os ficocolóides são substâncias mucilaginosas extraídas das paredes de algas vermelhas e pardas. Esse interesse comercial é dado devido às propriedades gelificantes, estabilizantes e emulsificantes dessas substâncias gelatinosas. São classificados em três tipos principais: alginato, ágar e carragenana.



Alginato é um termo usado para os sais de ácido alginico, encontrados nas paredes celulares das algas pardas. São polímeros formados por cadeias longas dos ácidos L-glucurônico e D-manurônico, podendo variar de acordo com a espécie (Figura 1). Alginatos na forma de sódio, cálcio, potássio ou magnésio é solúvel em soluções aquosa de pH acima de 3,5. Dessa forma os alginatos não são necessariamente os mesmos, podendo ser encontrado um alginato com alta viscosidade quando dissolvido em água (exemplo: *Macrocystis*) ou baixa viscosidade (exemplo: *Sargassum*). Seu uso é baseado nas três principais propriedades presentes: emulsificante, gelificante e estabilizante.

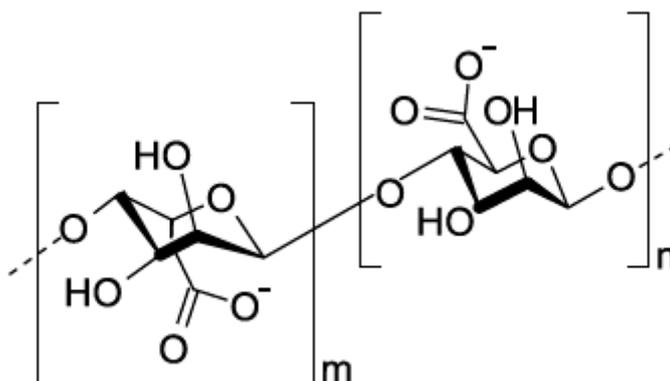


Figura 1: Esquema da estrutura química do alginato.

A importância dos alginatos como insumo para as indústrias alimentícia, farmacêutica e química, é devido as suas propriedades hidrocolóides, ou seja, sua capacidade de hidratar-se em água quente ou fria para formar soluções viscosas, dispersões ou géis. Os alginatos são únicos quanto as suas propriedades espessantes, estabilizantes, gelificantes e formadoras de películas, resultando em uma ampla gama de aplicações.

Os alginatos são utilizados em indústrias têxtil, devido à alta qualidade do gel produzido e por não reagirem com os corantes, dessa forma eles são os melhores espessantes para tais corantes, tornando-se mais caros do que os demais encontrados no mercado. São também utilizados na indústria alimentícia, devido à sua capacidade estabilizante, reduzindo a formação de cristais de gelo mesmo quando submetidos à temperaturas muito baixas, além de proporcionarem o aspecto macio. Outra aplicação importante se dá na indústria de cervejas por formar uma película não permitindo a formação de bolhas, mesmo diante da agitação do líquido.

Os principais gêneros de macroalgas utilizados para produção de alginato são: *Macrocystis*, *Laminaria* e *Ascophyllum*, todos característicos de águas frias. O gênero *Macrocystis* é coletado de populações naturais na costa oeste dos EUA, enquanto o gênero *Laminaria* vem sendo cultivado intensamente na China, onde a produção ultrapassou 200.000 t de algas secas por ano. Uma significativa parcela desse material é utilizado nas indústrias de alginato da própria China. Aproximadamente 27.000 t de alginatos com valores de US\$ 230 milhões foram comercializados em 1990. A produção comercial de alginatos teve início em 1929 e, em 1934, em escala limitada na Grã Bretanha e, mais tarde, durante a Segunda Guerra Mundial, surgiu a indústria de alginatos na Noruega, França e Japão.

Carragenanas são polissacarídeos extraídos da parede celular das algas vermelhas, diferindo em sua composição química e propriedades. As carragenanas de interesse comercial são denominadas *iota* (Figura 2), *Kappa* (Figura 3) e *lambda* (Figura 4). Seu uso está relacionado com a sua habilidade em formar soluções espessas ou géis. *Iota* carragenana produz um gel elástico formado com sais de cálcio, enquanto *Kappa* carragenana produz um gel rígido, forte com sais de potássio. Por outro lado *lambda* carragenana não forma géis, mas é importante por fornecer uma textura cremosa. É conhecido com o nome comercial de “musgo da Irlanda”.

Iota carragenana

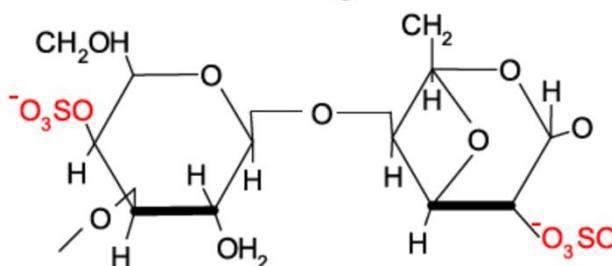




Figura 2: Esquema da estrutura química do *iota* carragenana.

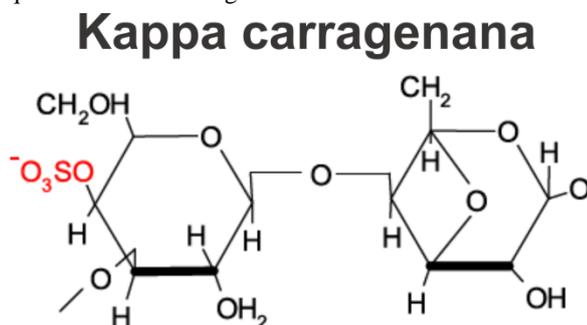


Figura 3: Esquema da estrutura química do *kappa* carragenana.

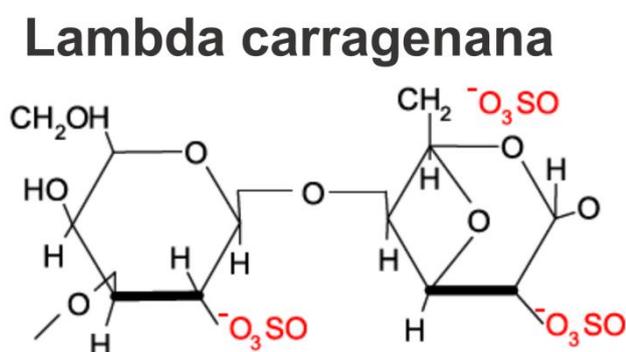


Figura 4: Esquema da estrutura química do *lambda* carragenana.

As galactanas (isto é, polímeros de galactose) diferenciam-se do ágar pelo seu carácter fracamente iónico, consequência do elevado teor em radicais OSO^3 . As galactanas diferem também dos alginatos, pois estes últimos devem o seu carácter iónico aos grupos carboxílicos COO^- . A denominação “carragenana” provém da palavra “carraigeen” que significa “alga” em gálico, ou do nome “carraghen”, distrito irlandês onde, desde há cinco séculos se colhe a alga vermelha *Chondrus crispus* (devido à sua característica particular que lhe permite coagular o leite).

A carragenana possui a habilidade exclusiva de formar uma ampla variedade de texturas de gel a temperatura ambiente: gel firme ou elástico; transparente ou turvo; forte ou débil; termo-reversível ou estável ao calor; alta ou baixa temperatura de fusão/gelificação. Pode ser utilizado também como agente de suspensão, retenção de água, gelificação, emulsificação e estabilização em outras diversas aplicações industriais.

O conteúdo de carragenana nas algas varia de 30% a 60% do peso seco, dependendo da espécie da alga e das condições marinhas, tais como luminosidade, nutrientes, temperatura e oxigenação da água. Algas de diferentes espécies e fontes produzem carragenanas de diferentes tipos: kappa, iota e lambda. Algumas espécies de algas podem produzir carragenanas de composição mista, como kappa/iota, kappa/lambda ou iota/lambda. As espécies produtoras de carragenana tipo kappa são a *Hypnea musciformis*, a *Gigartina stellata*, a *Euclima cottonii*, a *Chondrus crispus* e a *Iridaea*. As espécies produtoras de carragenana tipo iota são a *Gigartina* e a *Euclimaspinosum*. As espécies produtoras de carragenana tipo lambda são, em geral, o género *Gigartina*.

São polissacarídeos utilizados principalmente na indústria alimentícia por produzirem soluções de alta viscosidade e géis na presença de água, além disso reagem com proteínas, especialmente a caseína (presente no leite). A primeira menção do uso de carragenana na indústria alimentar é de meados do século XIX, como agente clarificante da cerveja. A extensa lista de características que as carragenanas apresentam, levaram ao aparecimento e à expansão da indústria de derivados lácteos.

Devido à sua reatividade com o leite, resultando em um gel suave e agradável às papilas, 52% das aplicações das carragenanas são referentes à indústria de laticínios (indústria do leite e seus derivados). Em sobremesas lácteas gelificadas, o agente gelificante usado é normalmente a *kappa* carragenana, devido ao seu baixo custo. A utilização da *iota* carragenana em sobremesas oferece a vantagem de produzir um gel de estrutura comparável à da gelatina, mas com um ponto de fusão mais elevado.



As carragenanas podem ser usadas na estabilização de cremes dentários, devido à sua capacidade de formar géis aquosos altamente estáveis contra a degradação enzimática, tornando a carragenana única como agente espessante nesse tipo de pastas. A sua estrutura permite, nestas circunstâncias, a liberação dos sabores e aromas durante a lavagem dos dentes.

A indústria de cosméticos tem feito uso crescente das carragenanas na fabricação de loções, cremes e géis perfumados. A aptidão para formar finas películas torna a carragenana um excelente condicionador de “shampoos”, além dos cremes de beleza, pois a rápida evaporação da fase aquosa da emulsão liberada sobre a pele forma um microfilme oleoso protetor e medicinal.

Em produtos lácteos, é utilizada em sorvetes, achocolatados, flans, pudins, creme de leite, iogurtes, sobremesas cremosas, queijos, sobremesas em pó e leite de coco. Em doces e confeitos, sua aplicação inclui sobremesas tipo gelatina, geléias, doces em pasta, confeitos e merengues. Nos produtos cárneos, a carragenana é aplicada em presunto, mortadela, hambúrguer, patês, aves e carnes processadas. Nas bebidas, é aplicada para clarificação e refinação de sucos, cervejas, vinhos e vinagres, achocolatados, xaropes, suco de frutas em pó e *diet shakes*. Em panificação é utilizada para cobertura de bolos, recheio de tortas e massas de pão. A carragenana é utilizada, também, em molhos para salada, sopas em pó, mostarda, molhos brancos e molhos para massas.

Os principais gêneros produtores de carragenana são: *Chondrus*, *Eucheuma*, *Kappaphycus*, *Gigartina*, *Iridaea* e *Hypnea*. Os únicos que vem sendo cultivados comercialmente são *Eucheuma* e *Kappaphycus*.

Ágar-ágar também conhecido como ágar ou agarose é um hidrocolóide extraído de diversos gêneros de algas vermelhas. O nome deste polímero é originado da palavra malaia agar-agar. Resultante da mistura heterogênea de dois polissacarídeos, agarose e agarpectina, encontrados na parede celular. A agarose é o componente gelificante enquanto a agarpectina tem apenas uma baixa capacidade de formar gel. É uma família de polissacarídeos que apresenta estruturas de D e L-galactose (Figura 5)

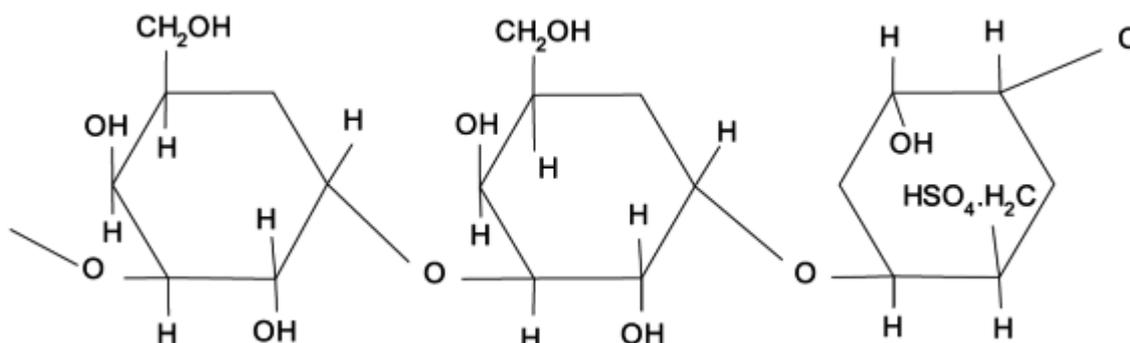


Figura 5: Esquema da estrutura química do ágar-ágar.

São polissacarídeos que possuem muitas aplicações, sendo utilizado principalmente na indústria alimentícia e na área de pesquisas, devido às suas aplicações biotecnológicas. Nas indústrias alimentícias o ágar tem uso generalizado, onde se aproveitam suas propriedades emulsificantes, estabilizantes e gelificantes, assim como sua alta resistência ao calor. Em virtude do seu baixo valor energético é empregado na elaboração de alimentos dietéticos. O ágar destinado à alimentação é considerado de boa qualidade, quando possui baixos teores de sulfato.

A quantificação dos teores de sulfato na molécula de ágar fornece um dos parâmetros de qualificação deste ficocolóide, a retirada de sulfato e a sua transformação em 3,6 anidrogactose aumentam a qualidade do gel. Contudo, o ágar que é utilizado na bacteriologia deve ter alguns pré-requisitos, como ser resistente a hidrólises enzimáticas, possuir uma alta força do gel e ausência de cargas.

O ágar na forma pura para análise é suplementado com uma mistura de nutrientes, usado em Biologia Vegetal para auxiliar a germinação de plantas em placas de Petri, sob condições estéreis e de acordo com cada tipo de planta. Este tipo de meio é particularmente útil na aplicação de concentrações específicas, por exemplo, os fitohormônios, de modo a induzir determinados padrões de crescimento.

Além da grande utilidade nas pesquisas biotecnológicas, sendo empregado em géis utilizados na separação de eletrólitos em eletroforese, na separação de moléculas, em técnicas de imunodifusão, em meios de cultivo microbiológico. A utilização do ágar para preparação desses meios deve-se principalmente à: formação de gel em baixas concentrações; baixa reatividade com outras moléculas; e resistência à degradação pelos microrganismos mais comuns. Preparações comerciais de ágar mundialmente são obtidas principalmente de espécies pertencentes às ordens Gelidiales e Gracilariales. E as formas de extração deste ficocolóide podem variar de acordo com o gênero escolhido (Figura 6).



De forma geral, o interesse e a busca pela aplicabilidade dos polissacarídeos das algas têm aumentado consideravelmente nos últimos anos e uma das áreas que também merece destaque, além da alimentícia, foi à procura por bioatividade destes polissacarídeos por estudos fitoquímicos. Atualmente, já se reconhece promissoras atividades biológicas para os ficocóloides como anticoagulantes, antitumorais, antivirais e antiinflamatórias e estas atividades sendo efetivamente comprovadas por estudos podem garantir o desenvolvimento de novos fármacos o que representa um grande ganho para o conhecimento e para setores importantes da indústria como o farmacêutico.

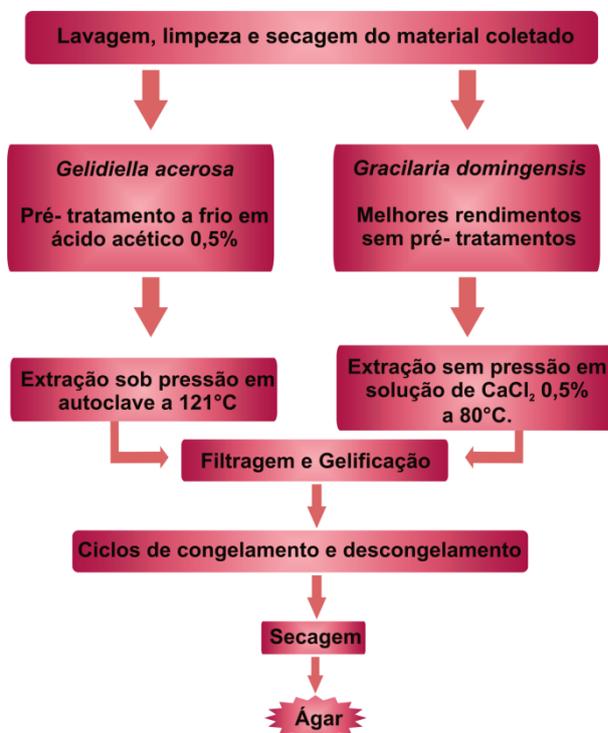


Figura 6. Esquema de extração do ágar com modificações de acordo com o gênero escolhido.

Referências bibliográficas

Blunden, G. (1991). Agricultural Uses of Seaweeds and Seaweed Extracts. Cap. 3. Seaweed,

Resources in Europe.Uses and Potential. John Wiley & Sons: 65 - 93.

Briones, A.V., Ambal, W.O., Estrella, R.R., Lanto, E.A., Sison, F., Villanueva, M.A. (2000).

Philippine **Journal of Science.**Vol. 129.

Carlucci, M.J., Scolaro, L.A., Damonte, E.B. (1999). Inhibitory action of natural carrageenans on herpes simplex virus infection of mouse astrocytes. **Experimental Chemotherapy.** 45: 6: 429-436.

Craigie, J.S. (1990). Cell Walls. Cap. 10. **Biology of the Red Algae.** Cambridge University Press: 221 - 257.

Graham, L.E.; Graham, J.M. & Wilcox, L.W. (2009) *Algae.* 2. ed. Pearson Benjamin Cummings, 616 p.

McCandless, E.L., (1981). Polysaccharides of the Seaweeds. Cap. 16. **The Biology of Seaweeds.**



Blackwel Scientific Publications: 559-588.

Oliveira, E.C., (2003). **Introdução à Biologia Vegetal**. EDUSP

Percival, E. (1968). Marine algal carbohydrates. **Oceanograph. Mar. Biol.** Ann. Rev. 6: 137 - 161.

Smidsrod, O. & Christensen, B.E. (1991).Molecular Structure and Physical Behaviour of Seaweed Colloids as Compared with Microbial Polysaccharides. Cap. 8. Seaweed, Resources in Europe. .

Stanley, N. (1987). Production, properties and uses of carrageenan. **Food and Agriculture**

Organization of United Nations (FAO).Paper N° 288: 116 - 46.



Anotações:



Algas Invasoras

Beatriz Nogueira Torrano da Silva

Organismo alienígena? Invasor? Exótico? Introduzido?

São muitos os termos que se referem ao registro de organismos em locais onde estes não eram encontrados originalmente. Neste sentido, um organismo *exótico* é aquele encontrado fora de seu limite natural de distribuição. O termo “*organismo introduzido*” é utilizado com o mesmo significado, porém está implícita a participação do ser humano como causador. Em inglês espécies exóticas são referidas com a expressão *alien species* (espécies alienígenas), embora seu uso em português não seja comum. Um *organismo invasor* tem um contexto distinto, o de provocar alterações nas comunidades nativas como consequência da dinâmica populacional do invasor. Neste caso o organismo exótico se propaga com facilidade pelo fato de não encontrar neste novo ambiente os entraves físicos, químicos e biológicos que enfrentaria em seu ambiente de origem. Dessa forma, pode-se dizer que o organismo invasor apresenta um comportamento *invasivo*.

Com estas definições em mente, percebemos que estamos cercados por organismos exóticos, principalmente pelo fato de fazer parte da cultura humana carregar consigo espécies de interesse para alimentação, ornamentação, vestimentas, etc. Você já se imaginou alimentando-se somente por itens que ocorrem naturalmente na área delimitada por sua cidade? Mesmo os índios brasileiros e os povos nômades africanos carregam consigo sementes e raízes que acabam por registrar seus locais de passagem.

Não se deve considerar que espécies exóticas são apenas aquelas oriundas de outros países, tampouco oriundas de outros estados ou cidades, adicionalmente, deve-se pensar em diferentes regiões biogeográficas, além de compreender previamente a distribuição natural de uma espécie. Assim, torna-se necessária a supervisão e o controle sobre os vetores de introdução atuantes dentro de um próprio país e de suas subdivisões.

Utilizaremos aqui a seguinte definição para *organismo exótico*: “Propágulos ou diásporos de organismos disseminados, por meios não naturais, para áreas onde eles não ocorriam naturalmente (Oliveira e Paula 2003)”.

Mas qual é o limite para a aplicação destes termos? Afinal, o que fazer quando uma população se distribui além dos limites naturais conhecidos para a espécie, através de métodos naturais de dispersão (pelo vento, como as sementes aladas, ou por natação no caso de alguns animais), e se desenvolvem de tal maneira que se tornam uma ameaça frente à comunidade nativa?

Os questionamentos são inúmeros, e este é um assunto amplo que muda de perspectiva conforme se aprofunda em um grupo ou outro de organismos. Para mais esclarecimentos a respeito do tema busque pelas referências sugeridas ao final deste capítulo. Este capítulo terá como foco as algas marinhas.

Vetores de introdução

A inserção das algas marinhas, em um ambiente que não de sua origem, ocorre por meio dos vetores de introdução. Os principais são: transporte marítimo, associação a cultivos de animais (como o de ostras e mexilhões, igualmente introduzidos), cultivo das próprias algas, transporte de plataformas, construção de canais, diques e comportas de grande porte, além da aquariofilia. O transporte de algas acontece diariamente em todo o mundo.

O principal vetor é o transporte marítimo. As macroalgas fixam-se no casco ou em qualquer estrutura imersa no navio, podendo sobreviver em travessias transcontinentais. Outra maneira é o transporte de propágulos na água de lastro. As microalgas, principalmente no caso das heterotróficas, podem sobreviver juntamente com os demais organismos planctônicos na água de lastro, que é abastecida e posteriormente despejada em pontos distintos do oceano, com a finalidade de compensar o equilíbrio do navio sob diferentes condições de carga.

Um caso mundialmente famoso de introdução de macroalga é o de *Caulerpa taxifolia* no mar Mediterrâneo, conhecida como *thekiller algae* por motivos bem fundamentados. Quem imaginaria que um propágulo descartado no efluente do Aquário de Mônaco (França) seria responsável pela exterminação da paisagem bentônica natural por milhares de hectares, no território de mais de cinco países? Esta espécie de *Caulerpa* se propagou sob a forma de uma variedade genética tolerante à temperatura local, e não encontrou ali seus predadores naturais. Esta variedade forma bancos bastante



densos naquele tipo de ambiente e, neste caso, modificou dramaticamente a comunidade bentônica. A expansão descontrolada da espécie, que alcançou também a costa Oeste dos Estados Unidos e a Austrália, provocou acalorados debates internacionais, incluindo workshops específicos e o envolvimento das sociedades política, empreendedora e científica de muitos países. A partir disto, a aquariofilia passou a ser um dos vetores em foco no contexto da introdução de espécies – sejam marinhas ou de água doce.

O cultivo comercial de macroalgas de interesse para consumo humano é feito em muitos países incluindo Indonésia, Filipinas, Japão, Malásia, Vietnã, Chile, China, Índia, Tanzânia, Madagascar, entre outros. O Brasil também está nesta lista, porém aqui esta atividade não alcançou grandes proporções. A motivação para o cultivo passa pelo consumo humano através da alimentação direta e extração de ficocolóides, amplamente empregados na indústria (para detalhes sobre este tema, ver Capítulo “Ficocolóides: polissacarídeos das algas marinhas”). Neste sentido, uma série de espécies de macroalgas foi introduzida com esta finalidade, incluindo os gêneros *Laminaria*, *Undaria*, *Kappaphycus*, *Porphyra*, *Gracilaria*, entre outros.

Neste último século tivemos um grande aumento dos casos de introdução de espécies marinhas para a maricultura, proporcionando fonte de renda, redução dos gastos com importações e aproveitamento do território marinho. É indiscutível o fato de que estas inserções serão cada vez mais importantes econômica e socialmente. Porém, por vezes a população cultivada promove o escape ou a reprodução dos indivíduos, o que pode resultar no estabelecimento da nova espécie na natureza. Este foi o caso de *Undaria pinnatifida* na costa britânica e de *Hypnea musciformis* e *Kappaphycus* spp. no Hawaii, bem como o de *K. alvarezii* nos mares da Índia, provocando o sufocamento dos corais nativos e prejudicando toda a comunidade.

Os casos mais notáveis remetem-se às introduções acidentais relacionadas ao transporte marítimo na maioria das vezes, ou associadas a outras espécies exóticas de mesma procedência, importadas para cultivo. Destacam-se, por sua repercussão, as introduções de *Undaria pinnatifida* na Austrália e Nova Zelândia, *Sargassum muticum* na costa Oeste da América do Norte e também no Sudeste europeu, *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* nos Estados Unidos, Ilhas Britânicas e França e *Caulerpa racemosa* no mar Mediterrâneo.

Prevenção e erradicação de espécies invasoras

Apesar de serem inúmeras as possíveis formas de introdução de algas e a ocorrência destas diariamente, o estabelecimento de uma população exótica no Brasil não é comum. Alguns fatores podem levar à baixa taxa de estabelecimento dos indivíduos introduzidos: os variados graus de poluição e contaminação da água da costa nas proximidades de nossos maiores portos e a discrepância que pode existir entre as águas de origem dos espécimes e as águas brasileiras conforme a região do país, devido a fatores bióticos e abióticos muito diversos. Deste modo a maior parte do material recém-chegado não poderia sobreviver por tempos prolongados e se estabelecer. Um caso que se encaixa neste cenário é o da Baía de Santos, em que estudos progressivos na região realizados por A.B. Joly, E.C. Oliveira Filho e F. Berchez, das décadas de 50 a 90 não evidenciaram o aparecimento de novas espécies, justamente neste porto que é uma das principais vias de chegada de navios. Ao mesmo tempo, espécies registradas no local na ocasião do primeiro período de investigação desapareceram nos períodos seguintes.

O risco de introduções se tornarem efetivas, sejam elas oriundas da navegação, de cultivos, da aquariofilia ou mesmo através de meios naturais (como as correntes marinhas) depende da combinação entre as características do ambiente com o grau de tolerância e o desempenho da espécie em questão. Condições como a compatibilidade da alga com o ambiente – este deve ser semelhante ao ambiente natural da espécie –, a falta de predação, a competição desleal com organismos bentônicos da comunidade nativa e o descarte de tanques marinhos – dependendo da localização do aquário portador – são fatores que influenciam a introdução. Para ter-se o estabelecimento efetivo de uma população depende-se, ainda, da capacidade de reprodução e expansão deste indivíduo. Porém, estima-se que uma parte considerável dos organismos introduzidos que sobrevivem não chegam a apresentar comportamento invasivo, integrando-se assim à comunidade.

No caso da maricultura, apesar de todos os benefícios sócio-econômicos envolvidos com a introdução de espécies, uma série de medidas devem ser tomadas para a prevenção de impactos à comunidade nativa, . Sugere-se então, 1º) o conhecimento prévio da biologia da espécie em questão, bem como dos processos envolvidos em sua interação com o ambiente; 2º) a seleção cuidadosa das cepas que originarão o cultivo, certificando-se da ausência de epífitos, endófitos ou mesmo doenças; 3º) um longo período de quarentena das plantas, certificando-se do não aparecimento de enfermidades relacionadas; 4º) o desenvolvimento de estruturas de cultivo que não permitam o escape das plantas para o ambiente,



incluindo redes de contenção; 5º) o monitoramento constante da área onde o cultivo é implantado, a fim de verificar o surgimento de indivíduos no ambiente.

No Brasil

A preocupação com a introdução marinha no Brasil é recente, datando das últimas três décadas. A iniciativa internacional de impedimento e contenção de espécies exóticas existe desde 1982, criada durante Convenção sobre o Direito do Mar e das Nações Unidas (Convenção de Montego Bay). Seguiu-se a preocupação com a elaboração da Agenda 21 Internacional, debatida durante a Conferência das Nações Unidas sobre meio Ambiente e Desenvolvimento de 1992 (a famosa Rio 92, resultando na Convenção sobre Diversidade Biológica). Houveram outros esforços para a inclusão do tema na VI Conferência das Partes da Convenção em 2002 (Holanda), e a participação da Organização Marítima Internacional com a Convenção Internacional para o Controle e Gestão da Água de Lastro de Navios e Sedimentos Associados em 2004. O Brasil é signatário destas ações, mas tomou suas próprias iniciativas em 2001 com a Reunião de Trabalho sobre Espécies Exóticas Invasoras, seguido pelo I Simpósio Brasileiro sobre Espécies Exóticas Invasoras (2005) e a criação da Câmara Técnica Permanente sobre Espécies Exóticas Invasoras em 2006, pela Comissão Nacional de Biodiversidade (CONABIO), envolvendo sempre uma série de organizações nacionais e internacionais, públicas e não governamentais. Seguiu-se a publicação do Informe sobre as Espécies Exóticas Invasoras Marinhas no Brasil em 2009, pelo Ministério do Meio Ambiente. O esforço de investigação nesta área é crescente e tanto as iniciativas quanto grande parte dos profissionais envolvidos estão reunidos no trabalho de Fernandes *et al.* (2009).

Em relação às algas marinhas, especificamente, temos o registro de alguns eventos de introdução em águas brasileiras ocorrido com as seguintes espécies: *Kappaphycus alvarezii*, *K. striatum*, *Porphyrasuborbiculata*, *Caulerpa scalpelliformis* e *Laurencia caduciramulosa*. As três primeiras têm atrativo comercial para a indústria, enquanto que *C. scalpelliformis* tem uso na aquariorfilia e *L. caduciramulosa* não tem uso humano.

Caulerpa scalpelliformis, variedade de distribuição reconhecidamente pantropical, tinha como limite sul de sua distribuição no Brasil a região do Espírito Santo, até ser documentada na baía de Ilha Grande (RJ) em 2001. Desde então esta alga vem aumentando rapidamente sua área de distribuição, chegando a deslocar a espécie *Sargassum vulgare* anteriormente dominante, além de influenciar a abundância de outras espécies da comunidade bentônica. Um possível vetor de introdução de *C. scalpelliformis* na região seria a movimentação de embarcações, dada a presença do terminal petroleiro da baía de Ilha Grande e do estaleiro da Verolme. Vetores alternativos seriam a aquicultura de moluscos e a aquariorfilia, neste último caso devido à beleza estética desta alga e sua fácil adaptação a aquários.

Laurencia caduciramulosa foi coletada pela primeira vez em 2001, também na baía de Ilha Grande (RJ), inicialmente sob a forma de indivíduos esparsos. Pouco tempo depois a espécie passou a ser vista em áreas circunvizinhas. Apesar do pequeno porte, *L. caduciramulosa* difunde-se facilmente através de propágulos apicais. O fato de não ter sido detectada em levantamentos prévios reforça a proposição de esta espécie ser uma nova ocorrência. A existência de estaleiros nas proximidades das áreas de ocorrência desta alga levanta a hipótese destes serem a fonte de introdução. Recentemente um novo registro foi feito no estado da Bahia. Por se tratar de espécie inconspícua, é muito possível que o ponto original de introdução seja qualquer outro ponto não investigado.

Kappaphycus alvarezii e *K. striatum* foram inicialmente introduzidos em Ubatuba, sob a forma de um cultivo experimental para obtenção de biomassa para extração ficocolóides, sob autorização do IBAMA - sendo que *K. striatum* foi erradicado em 2001. Após este pontapé inicial, *K. alvarezii* teve uma ampliação da área autorizada para cultivo em toda a faixa entre a Baía de Sepetiba (RJ) e Ilhabela (SP). Mais recentemente, Florianópolis (SC) também conta com uma frente de investigação no cultivo de *K. alvarezii*, liderados pela Dra. Leila Hayashi, da UFSC.

Há indícios de que uma série de outras introduções algais, sem acompanhamento científico, foram efetuadas em outras regiões do país, como são os casos de *Eucheuma denticulatum*, *Porphyrasp. eK. alvarezii*. Apesar de todos os riscos de uma introdução executada fora dos padrões da boa prática ecológica, parece que tanto as introduções de *Porphyrasp.* no sudeste brasileiro e de *E. denticulatum* no nordeste, fracassaram e não se estabeleceram na natureza.

Baseando-se no exemplo da devastação biológica provocada pelo avanço de *Caulerpa taxifolia* no mar Mediterrâneo, uma pesquisa brasileira incluiu a investigação da situação das macroalgas marinhas em aquários comerciais. Este trabalho encontrou uma grande variedade de espécies viventes em tanques do Estado de São Paulo, incluindo grupos não registrados para águas brasileiras. Além destas, foi detectada a presença de *C. scalpelliformis* em uma variedade de distribuidoras, onde os talos são multiplicados a fim de serem utilizadas como ornamentação e refúgio em aquários



marinhos. Lembrando que esta é a mesma espécie encontrada na Ilha Grande (RJ) sob a forma de espécie invasiva, fica comprovada a potencialidade da aquariofilia como fonte de espécies potenciais para a invasão de ambientes marinhos costeiros.

Referências bibliográficas

Bellorín A.; Oliveira E.C. (2001) Introducción de especies exóticas de algas marinas: Situación en América Latina. In: Sustentabilidad de la biodiversidad, eds. K. Alveal & T. Antezana, Universidad de Concepción, Chile. Cap. 36 (pp. 693-701).

Fernandes F.C.; Campos S.H.C.; Plastina A.(2009). Estrutura de prevenção e controle. In: Lopes R. M. (Org.), Informe sobre as espécies exóticas invasoras marinhas no Brasil. Ministério do Meio Ambiente - Secretaria de Biodiversidade e Florestas. **Série Biodiversidade 33, Cap. 8 (pp. 395-423).**

Guilardi N.P.; Hayashi L.; Berchez B.; Yokoya N.S.; Oliveira E.C.(2008) An alternative environmental monitoring approach to nonindigenous species introduced for maricultural purposes: the case of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) cultivation in Brazil. **Oecologia Brasiliensis 12 (2): 270-274.**

Lopes R. M. (Org.) (2009) Informe sobre as espécies exóticas invasoras marinhas no Brasil. Ministério do Meio Ambiente - Secretaria de Biodiversidade e Florestas, **Série Biodiversidade 33.**

Oliveira Filho E.C. (1984) Algas exóticas nos mares brasileiros. **Ciência e Cultura,36 (5): 801-803.**

Oliveira E.C.; Silva, B.N.T.; Amancio, C.E. (2009) Fitobentos (Macroalgas). In: Lopes R. M. (Org.), Informe sobre as espécies exóticas invasoras marinhas no Brasil. Ministério do Meio Ambiente - Secretaria de Biodiversidade e Florestas, **Série Biodiversidade 33, Cap. 5 (pp. 105-142).**

Oliveira Filho E.C.; Paula E.J. (2003) Exotic Seaweeds: Friends or Foes? **Proceedings of the 17th International Seaweed Symposium 17: 87-93.**

Paula e Oliveira (2003) Macroalgas exóticas no Brasil com ênfase à introdução de espécies visando à maricultura. In: **Água de lastro e Bioinvasão Cap. 8(pp. 99-112).** Ed. Interciência, Rio de Janeiro.

Paula e Pereira (1998) Da “marinomia” à maricultura da alga exótica, *Kappaphycus alvarezii* para produção de carragenanas no Brasil. **Panorama da Aqüicultura 8(48): 10-15.**

Torrano-Silva B.N.; Amancio C.E.; Oliveira E.C. (2013) Seaweeds in ornamental aquaria in Brazil: anticipating introductions. **Latin American Journal of Aquatic Research 41(2): 344-350.**

Referências bibliográficas

Global Invasive Species Database.Disponível em: <<http://www.issg.org/database>>. Acesso em 01/04/2013.

Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental. Base de dados nacional de espécies exóticas invasoras, I3N Brasil. Disponível em: <<http://i3n.institutohorus.org.br>>

Silva, J.S.V.; Souza, R.C.C.L. (Orgs.) (2004) **Água de lastro e bioinvasão.** Editora Interciência, Rio de Janeiro. 224 pp.



Anotações:



Árvores Filogenéticas: da Classificação aos Estudos Evolutivos

Benôit Francis Patrice Loeuille
Luiz Henrique Martins Fonseca

As árvores filogenéticas são diagramas dicotômicos representando as relações de parentesco entre organismos. Elas fornecem arcabouços gerais para a ordenação do conhecimento biológico, sendo à base da sistemática filogenética, e também os fundamentos para a elucidação de padrões evolutivos.

Da genealogia a filogenia

O uso de diagramas dicotômicos para organizar o conhecimento biológico vem desde Teofrasto (372 a.C.-287 a.C.), sendo uma representação do método de classificação descendente baseado em divisões lógicas de Aristóteles. Entretanto esses diagramas não implicavam nenhum tipo de relação evolutiva entre os organismos, mas somente relações lógicas. O pensamento de Aristóteles deu a origem da ideia da *scala naturae* ("escada da natureza") ou "cadeia dos seres", segundo a qual todos os organismos podem ser ordenados de maneira linear, contínua e progressiva, começando pelo mais simples até alcançar o mais complexo. Essa ideia vai conhecer seu maior apogeu durante o século XVIII devido à obra do filósofo alemão Leibniz e sua teoria da continuidade; a crença na *scala naturae* tornou-se comum entre naturalistas como Buffon, Lineu e Charles Bonnet.

No início do século XIX, Lamarck elaborou as bases da teoria da evolução e publicou um diagrama com as relações evolutivas entre animais, semelhante a imagem clássica de genealogia. Este conceito Lamarckiano contrapõe-se à ideia de cadeia dos seres e pretendia expressar o mais semelhante possível a ordem da natureza e as relações de parentesco entre os animais. Contudo, é na *Origem das Espécies* de Charles Darwin, em 1859, que encontramos ao mesmo tempo a ideia de filogenia como o caminho histórico único, seguido pela evolução e a imagem da árvore filogenética. Haeckel propôs o termo filogenia e também foi o autor da primeira árvore filogenética, publicada em 1866.

Hoje três motivos principais distinguem genealogias e filogenias. Primeiro, a genealogia fala "quem descende de quem", enquanto a filogenia expressa graus relativos de relacionamento do tipo "quem é mais próximo de quem, em relação a um terceiro", isso é a relação de parentesco. Segundo, a genealogia é uma árvore cujos ramos são ligações genéticas entre ancestrais e descendentes, conectando indivíduos identificados; numa filogenia os ramos são inovações produzidas a partir de ancestrais hipotéticos. Finalmente, a genealogia é uma representação direta do passado, construída a partir de dados retrospectivos; a filogenia usa dados atuais, obtidas pela comparação entre descendentes, sendo um exercício de reconstrução do passado.

Apesar da ideia da *scala naturae* ter sido refutada com o desenvolvimento da teoria da evolução, ela ainda permeia a maneira pela qual muitos biólogos interpretam as filogenias. Isso fica claro quando são de progresso da esquerda para a direita, considerando as linhagens da esquerda como ancestrais. Isso leva a uma interpretação errada dos processos evolutivos.

Definições e conceitos fundamentais

Hennig propôs uma definição precisa da relação biológica (relação de parentesco) e uma maneira pela qual essa relação pode ser descoberta. A partir da leitura da árvore na Figura 1, podemos estabelecer que A e B são mais relacionados entre si do que com C, porque A e B compartilham o ancestral comum mais recente (x). Dizemos que A é grupo-irmão de B. Assim, o objetivo da reconstrução filogenética é de fazer hipóteses de hierarquia de grupos-irmãos expressada na forma de um diagrama, chamado de cladograma. Essas hipóteses são feitas por meio da análise dos caracteres dos taxóns.

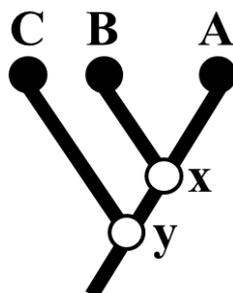


Figura 1. Relações de parentesco entre três táxons A, B e C e dois ancestrais hipotéticos x e y.

Uma grande contribuição teórica de Hennig foi mostrar que somente uma parte da similaridade entre dois taxóns é informativa para a descoberta das relações de parentesco. Ele definiu dois tipos de caracteres: um caráter ocorrendo no morfotipo ancestral é chamado de plesiomorfia e um caráter derivado (afastado do morfotipo ancestral) é uma apomorfia. Na Figura 2, o caráter "quadrado preto" é plesiomórfico enquanto o "quadrado branco" é apomórfico. Deve-ser ressaltado que são conceitos relativos. Por exemplo, na Figura 3, o caráter "quadrado branco" é uma apomorfia do grupo (FEDCBA) mas é uma plesiomorfia para o grupo (CBA). Os grupos-irmãos são descobertos pela identificação das apomorfias compartilhadas, as sinapomorfias. O conceito de sinapomorfia é estreitamente relacionada a noção de homologia.

Existem três tipos de grupos e somente um deles é um grupo natural (Figura 4). Um grupo é monofilético, ou natural, se ele contém o ancestral comum mais recente e todos seus descendentes e sua descoberta é feita pela identificação de uma ou mais sinapomorfias (Figura 4a). O Hennig adicionou uma segunda definição: um grupo monofilético é um grupo de espécies em que cada espécie é mais relacionada com qualquer espécie do grupo do que uma espécie classificada fora do grupo. Essa última definição pode ter consequências no uso de terminais que não são biologicamente organizada hierarquicamente. Os dois outros tipos de grupos são conhecidos como artificiais. Um grupo parafilético contém o ancestral comum mais recente mas não a totalidade dos descendentes (Figura 4b). Essa situação ocorre quando um grupo é definido por simplesiomorfia. Finalmente, um grupo polifilético não contém o ancestral comum mais recente (Figura 4c). Ele é definido por homoplasia.

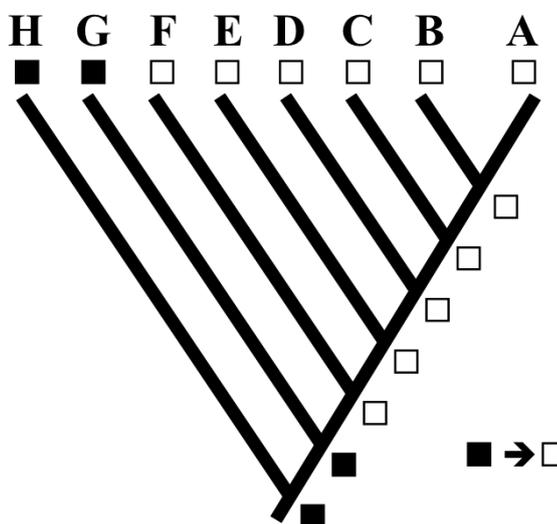


Figura 2. Plesiomorfia e apomorfia.

Os caracteres usados para a reconstrução filogenética devem ser qualitativos. Eles podem ter dois estados (binário) (Figura 5a, b) ou mais (multiestados) (Figura 5c, d). Quando codificamos os caracteres em estados estabelecemos uma série de transformação. No caso de caráter multiestado, esse série pode ser ordenada ou não (Figura 5c, d). Os caracteres codificados são organizados em uma matriz que vai servir de base para a reconstrução filogenética. A polarização da série de transformação (ou seja, qual é o estado de caráter mais derivado) será feita utilizando um grupo externo. Esses caracteres podem também ser interpretados como hipóteses de homologia inferidas via similaridade, conjunção e/ou congruência. A análise cladística nesse caso corresponde ao teste de congruência.

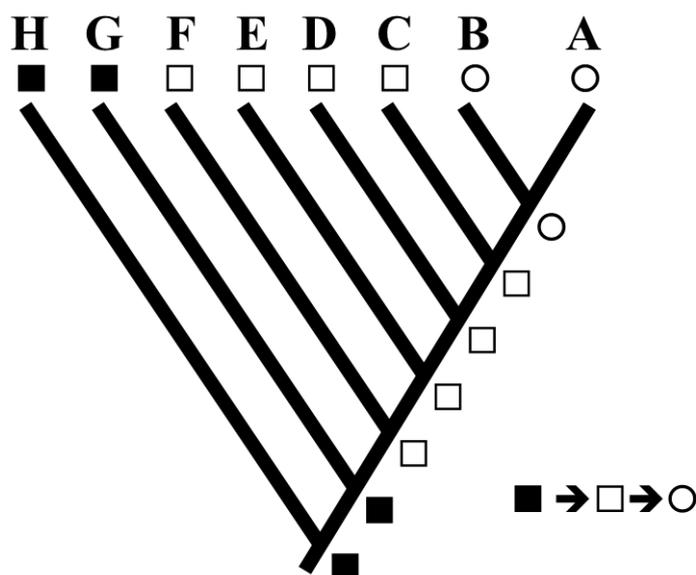


Figura 3. Apomorfia é um conceito relativo.

Os termos cladograma e árvore filogenética são considerados sinônimos pela maioria dos biólogos, assim como análise cladística e análise filogenética. Entretanto, um cladograma não tem um eixo de tempo implícito e não tem implicação de relação ancestral-descendente, representando somente a distribuição dos caracteres analisados (correspondendo numa hierarquia de sinapomorfias). Ao incluir um eixo temporal transformamos o cladograma numa árvore filogenética, que será interpretada num contexto evolutivo.

A análise de parcimônia e os métodos estatísticos (distância, máximo de verossimilhança e análise bayesiana) são as principais ferramentas usadas para reconstruir as árvores filogenéticas. O objetivo de cada método é encontrar a árvore que minimiza uma determinada quantidade (p. ex. número de passos para a parcimônia). Essa quantidade chama-se critério de otimização.

Análise de parcimônia

Construção do cladograma

Todos os métodos começam por construir uma árvore não enraizada (sem direção de transformação dos caracteres), sendo que encontrar a árvore não enraizada mais parcimoniosa (com o menor número de passos) simplifica os cálculos. Os métodos exatos ("busca exaustiva" e "branch and bound") garantem de encontrar o cladograma que minimiza o critério de otimização. Contudo, o número de árvores possíveis aumenta exponencialmente com o aumento do número de terminais. Por exemplo, para 20 terminais existem $2 \cdot 10^{20}$ árvores possíveis. Assim, o limite computacional para um método exato é de cerca de 20 terminais. Para contornar essa limitação computacional, métodos heurísticos foram desenvolvidos para explorar apenas uma parcela do universo de árvores, porém sem a garantia de encontrar a árvore mais parcimoniosa. Diferentes algoritmos foram desenvolvidos para otimizar as buscas (algoritmo de Wagner, rearranjo dos ramos etc.).

Polarização dos caracteres e enraizamento

A polarização corresponde a imposição da direção numa série de transformação, em outras palavras, ao distinguir o estado apomórfico do estado plesiomórfico de um caráter. O único método direto para polarizar é o critério ontogenético, porém a ontologia da maioria dos caracteres permanece ainda desconhecida. Assim, um método indireto está sendo usado: a comparação com o grupo externo. O grupo externo corresponde a um ou vários táxons que são relacionados a nosso grupo de interesse. Não é recomendável restringir as comparações de caracteres a um único táxon externo. A escolha do grupo externo, em geral, é baseada numa hipótese filogenética. O enraizamento da árvore efetua-se no ramo com o grupo mais externo (o menos relacionado).

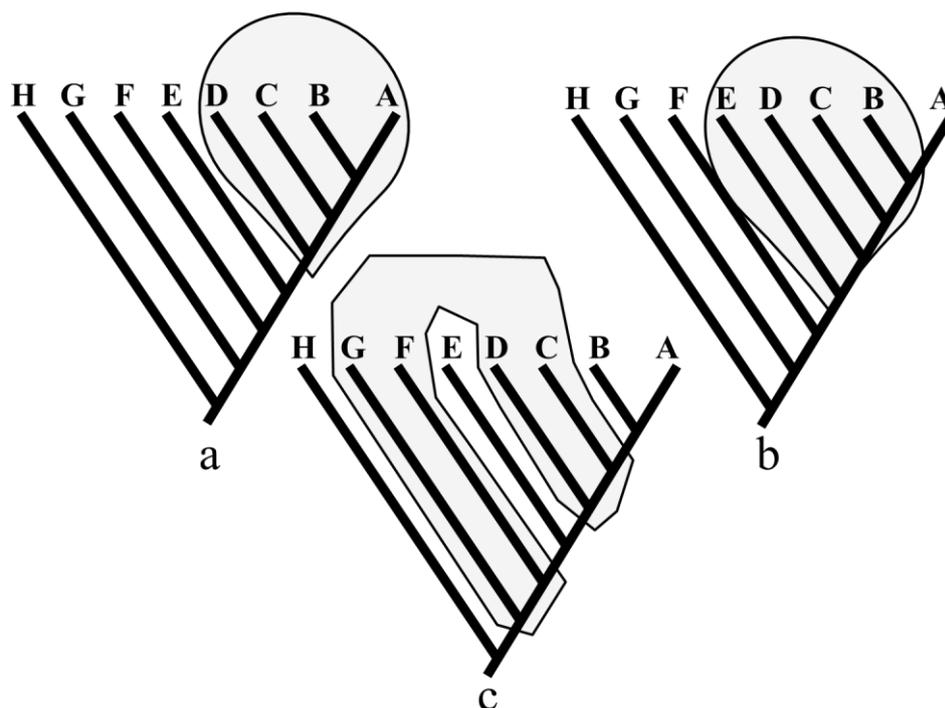


Figura 4. Os diferentes tipos de grupos: monofilético (a), parafilético (b) e polifilético (c).

Otimização

A otimização assina estados de caráter para cada nó da árvore. Ela minimiza o critério de otimalidade. Existem diferentes tipos de otimização (Wagner, Fitch, Dollo, Camin-Sokal) variando entre eles segundo os caracteres sendo tratados com ordenados ou não, favorecendo ou não as reversões. Com dados moleculares, um custo pode ser associado a cada transformação de estado para estado usando uma matriz quadrada (otimização generalizada).

Índices, estimativas de sustentação e árvores de consenso

Se um caráter ajusta-se perfeitamente numa árvore podemos dizer que ele é 100% consistente com essa árvore. A homoplasia corresponde a discordância entre um caráter (ou a matriz inteira) e uma árvore. Essa discordância pode ser medida por vários índices. O índice de consistência (CI) é uma mensuração do número de eventos homoplásticos, entretanto ele é muito sensível ao número de táxons e o número de caracteres não informativos. O índice de retenção (RI) mede a proporção de autapomorfias (estado derivado a um táxon único) e homoplasias em relação ao número total de passos. Podemos interpretar o RI como a quantidade de similaridade podendo ser interpretada como sinapomorfia.

As estimativas de sustentação trazem uma mensuração da robustez de um clado, o quanto a existência do clado depende da nossa amostragem dos caracteres. Assim, as estimativas de sustentação mais usadas são baseadas em reamostragem dos caracteres. Os métodos de bootstrap e o jackknife são reamostragens não paramétricas. O bootstrap reamostra os caracteres com reposição. O clado é estatisticamente significativo se o valor é superior ou igual a 95%. A interpretação dos valores de bootstrap é difícil devido a grande variação nos resultados. O jackknife difere do bootstrap pela reamostragem sem reposição.

Mas o que fazer quando mais de uma árvore mais parcimoniosa é obtida? Para sumarizar essa informação, são empregados os métodos de consenso. A árvore de consenso estrito contém apenas os grupos monofiléticos presentes em todas as árvores. Ela elimina qualquer grupo duvidoso, porém parte da informação presente nas árvores é perdida (como no caso dos cladogramas não conflitantes entre si, mas não presentes em todas as árvores). A árvore de consenso de maioria reconhece apenas os grupos monofiléticos presentes na maioria das árvores, haja ou não conflitos entre eles. Ela é usada para sintetizar os resultados da análise bayesiana e de reamostragem (bootstrap, jackknife).

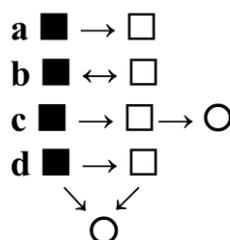


Figura 5. Os diferentes caracteres usados em análise filogenética: binário polarizado (a), binário não polarizado (b), multiestado polarizado e ordenado (c) e multiestado polarizado não ordenado (d).

Inferências estatísticas de filogenia

Distância genética e modelos de substituição de nucleotídeos

A distância genética é a divergência entre duas sequências derivadas de um ancestral em comum. Numa árvore filogenética essa distância corresponde ao comprimento do ramo (distância entre os nós). Se as sequências evoluíram como um diagrama dicotômico e se conhecemos as distâncias entre as sequências então podemos reconstruir a árvore filogenética.

Para calcular distâncias genéticas é preciso ter um modelo de substituição de nucleotídeos que forneça uma descrição estatística das substituições. Esse modelo deve apresentar as seguintes propriedades: a taxa de mudança da base i para a base j é independente da base que ocupava o sítio antes de i (propriedade de Markov); as taxas de substituição não mudam ao longo do tempo e as frequências de A, C, G e T são no equilíbrio. Com tal modelo, podemos calcular a probabilidade de mudança de um nucleotídeo durante um tempo evolutivo e a partir desta probabilidade calcula-se a distância genética esperada. A escolha do modelo a usar para a reconstrução filogenética é baseada nos próprios dados usando um teste de razão de verossimilhança.

Métodos baseados em distância

Esses métodos, chamados de fenéticos, são baseados no cálculo das distâncias genéticas e na similaridade global. Os dois métodos de agrupamento são o Neighbor-Joining (agrupamento de vizinhos) e o UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic average). O fato de não ter separação entre caracteres plesiomórficos e apomórficos levou o abandono quase total da fenética para a reconstrução filogenética.

Máximo de Verossimilhança

A noção de verossimilhança captura a idéia de que algo é provável de acontecer ou ter acontecido. A aplicação do máximo de verossimilhança (ML) na reconstrução filogenética implica a busca da árvore que tem a maior probabilidade de ter originado os dados observados (a matriz). O objetivo é de avaliar no contexto de um modelo de substituição de nucleotídeos (M) a probabilidade condicionada de ter uma árvore específica (E_i) sabendo que observamos os dados da matriz (D), essa probabilidade anota-se $P(E_i/D)$. A verossimilhança dessa última probabilidade, $L(E_i/D)$, é igual a $P(D/E_i)$. Assim, procuramos as árvores com o modelo M que maximizam $L(E_i/D)$, isso é o Máximo de Verossimilhança (ML).

A primeira etapa de uma análise filogenética em ML é de definir uma árvore e os parâmetros (inclusive o comprimento dos ramos) e a verossimilhança de cada caráter é determinada. Numa segunda etapa, as verossimilhanças de cada caráter da matriz são multiplicadas para obter a verossimilhança global desta árvore com esses comprimentos de ramos. Depois, os parâmetros da árvore são otimizados para maximizar a verossimilhança. Finalmente, o universo de árvores possíveis é explorado para encontrar a árvore com a verossimilhança máxima.

Análise bayesiana

Essa análise é baseada no teorema de Bayes:

$$P(E_i/D) = \frac{P(E_i) P(D/E_i)}{\sum_r P(E_r) P(D/E_r)}$$



Enquanto a verossimilhança avalia uma árvore com base em quão provável é que a evolução teria produzido os dados observados, a inferência bayesiana avalia uma árvore com base em sua probabilidade posterior $P(E_i/D)$, a probabilidade que a árvore é verdade, com base nos dados, os nossos modelos de evolução e nossas crenças a priori. No numerador da fórmula, temos a probabilidade a priori da hipótese filogenética e sua verossimilhança $P(D/E_i)$ e no denominador a probabilidade a priori dos nossos dados (correspondendo a soma da probabilidade de cada hipótese sabendo os dados observados).

Uma propriedade interessante do método bayesiano é que uma vez que temos a probabilidade posterior, podemos marginalizar (estimar) qualquer parâmetro de interesse do modelo. Assim, não precisamos determinar os parâmetros antes de começar a análise como no caso da análise ML.

Os resultados da análise bayesiana é um conjunto de árvores (em geral alguns milhares) que foram amostrados durante a análise. Uma árvore de consenso de maioria é construída para sintetizar os resultados. A probabilidade posterior de cada clado é uma estimativa da sustentação.

Classificações filogenéticas

O princípio mais importante das classificações filogenéticas é que todos os táxons devem ser monofiléticos. Assim, cada táxon dessas classificações são entidades históricas que são descobertas via a análise filogenética e não entidades inventadas.

Transformar uma árvore filogenética numa classificação corresponde ao ato de criar um sistema de nomes que reflita a filogenia em todos os níveis. Além de reconhecer somente os táxons monofiléticos, três outras normas devem ser seguidas: (1) todos os níveis de generalidade conhecidos do grupo devem ser expressos ou passíveis de reconhecimento; (2) deve ser possível reconhecer as relações entre grupo-irmãos e (3) deve ser possível reconhecer a que grupo maior um grupo menor está subordinado.

Árvores filogenéticas como produtos dos processos evolutivos

As árvores filogenéticas são diagramas que representam as relações evolutivas entre espécies. Em outras palavras, elas representam as linhas de descendência evolutiva que unem espécies viventes e fósseis. Para entender melhor o que uma filogenia representa comece por imaginar uma geração de uma espécie herbácea anual, vivendo em uma mesma área e se reproduzindo sexualmente (Figura 5A). Se analisarmos duas gerações dessa espécie e alguns poucos indivíduos, podemos observar a relação de descendência, estabelecida de uma geração a outra (Figura 5B). Se expandirmos um pouco nosso olhar, será possível observar algumas gerações e todas as relações de parentesco por elas estabelecido (Figura 5C). Agora experimente expandir um pouco mais a observação e excluir os indivíduos, restando somente às linhas de descendência que os une (Figura 5D). Nessa escala estão representados milhares de indivíduos e um grande número de gerações. Nesse caso fica difícil entender as relações estabelecidas, restando somente um emaranhado de linhas de descendência (Figura 5E). Nesse nível já podem ser observadas as populações. Elas nada mais são que conjuntos de indivíduos que ocupam uma mesma área e que experimentam um isolamento reprodutivo de outros indivíduos da mesma espécie em outras áreas, mesmo que esse isolamento dure apenas algumas poucas gerações. O isolamento reprodutivo entre as populações é quebrado pelo fluxo gênico, devido principalmente pela migração de indivíduos entre populações. Se observarmos o conjunto de todos os indivíduos de uma espécie é possível notar a coesão que eles estabelecem, formando uma série contínua e única (Figura 5F). Essa coesão é garantida simplesmente pelo fluxo gênico.

Porém, em alguns momentos esse fluxo gênico pode cessar por um longo período de tempo, fragmentando uma linhagem ancestral em duas ou mais linhagens novas (Figura 6). Isso ocorre quando populações se tornam reprodutivamente isoladas umas das outras. Mas como ocorre esse isolamento? Ele se dá basicamente de duas formas: quando um ou alguns indivíduos migram para uma nova região e estabelecem uma nova população, isolada das demais. Outra possibilidade é a fragmentação de uma população ancestral em duas ou mais populações devido ao surgimento de uma barreira geográfica, como um rio ou uma cadeia de montanhas (Figura 7). Esse fenômeno é conhecido como vicariância. O isolamento de populações devido a migração é o mais comumente observado. Os eventos de vicariância são menos comuns, porém de grande importância, já que são responsáveis pela fragmentação de toda uma biota (ou ao menos boa parte dela) e não apenas de uma espécie em particular. Dessa forma, a vicariância é responsável pela formação de padrões gerais de distribuição geográfica entre os organismos (detalhado no capítulo de biogeografia).



O isolamento reprodutivo de populações por longos períodos de tempo é o responsável pelos eventos de cladogênese, ou especiação. As linhagens evoluindo separadamente ficam cada vez mais diferentes entre si. Essas diferenças são genéticas, porém também se expressam por meio da morfologia, fisiologia ou comportamento. Em um tempo razoável, que pode variar de alguns anos a milhões de anos, essas linhagens acumularão diferenças em tal ordem que mesmo que voltem a ocorrer em um mesmo local, estarão totalmente isoladas reprodutivamente, ou seja, não há mais fluxo gênico entre elas. Nessa condição, indivíduos pertencentes a diferentes linhagens não mais se reconhecerão como parceiros potências. Uma vez isoladas reprodutivamente, as agora espécies seguirão um destino particular e não mais haverá contato entre elas ou entre seus descendentes. Em outras palavras, mutações que se originarem em uma espécie não poderão "passar" para a outra espécie.

Dentro desse contexto, as filogenias emergem como representações diagramáticas dessa série ancestral-descendente e dos eventos de cladogênese (os nós da árvore filogenética), estabelecendo dessa forma as relações evolutivas entre os terminais (que na maioria das vezes representam espécies). Dentro das linhagens uma intrincada relação é estabelecida entre os indivíduos e as gerações e uma verdadeira malha é formada (Figura 1E-F). As filogenias são representações simplificadas das linhagens e dos eventos de especiação que continuamente estão ocorrendo. Como simplificação, muito da história é perdida, restando somente a relação entre os terminais utilizados.

Referências bibliográficas

Amorim DdeS. (2005). Fundamentos de Sistemática Filogenética. **Holos**, Ribeirão Preto.

Baum DA; Smith SD. (2012). Tree thinking: an introduction to phylogenetic biology. **Roberts and Company Publishers**, Chicago.

Kitching IJ; Forey PL; Humphries CJ; Williams AD.(1998). Cladistics: the theory and practice of parsimony analysis. **Oxford University Press**, USA.

Wheeler WC. (2012). Systematics: a course of lectures. **Wiley-Blackwell**, Sunderland.



Anotações:



3

Recursos



Biocombustíveis

Marco Aurélio Sivero Mayworm

Ao longo da história do homem, desde os tempos em que se procurava manter uma fogueira acesa, o consumo de energia foi vital para o desenvolvimento das civilizações. A Revolução Industrial, no século XIX, criou uma interdependência entre o progresso e o consumo de energia, e assim novas fontes de energia precisaram ser criadas para atender ao novo padrão de desenvolvimento em várias partes do mundo, e suas consequências. No século XX, o consumo de energia no mundo aumentou 17 vezes e as emissões de CO₂, SO₂ e NO_x provenientes da queima de combustíveis fósseis contribuíram para o aumento da poluição atmosférica.

Atualmente, 80% do consumo mundial de energia em todo o mundo depende fortemente de combustíveis fósseis (carvão, petróleo e gás). Fontes de energia hidroelétrica, nuclear, eólica, geotérmica somam 10% e o uso de biomassa os 10% restantes. Além das formas mais primitivas como o consumo de lenha, existem atualmente vários métodos para converter biomassa em energia. Eles incluem gaseificação, métodos de produção de calor e eletricidade, produção de biocombustíveis através da conversão de resíduos sólidos de aterros sanitários em biogás, produção de álcool e biodiesel a partir de várias espécies vegetais.

Biocombustível é o combustível gerado a partir da utilização de diferentes materiais biológicos não-fósseis, disponíveis de uma maneira renovável, como produtos agrícolas, produtos florestais, resíduos agrícolas e florestais, resíduos industriais, algas e resíduos animais.

A maior diferença química entre os biocombustíveis e matérias-primas derivadas do petróleo é o conteúdo de oxigênio. Nos biocombustíveis, os teores de oxigênio variam entre 10 e 45%, enquanto que os derivados de petróleo são constituídos principalmente de hidrocarbonetos; os biocombustíveis apresentam ainda teores muito baixos de enxofre e nitrogênio tornando as propriedades químicas dos biocombustíveis muito diferentes em relação ao petróleo. Essas características contribuem para que os biocombustíveis, quando queimados, emitam um menor percentual de gases causadores do efeito estufa.

Segundo LEITE & LEAL (2007), o uso alternativo de biocombustíveis em todo o mundo tem sido incentivado por diversos governos visando uma redução da dependência da compra de derivados de petróleo, uma nova possibilidade de gerar agonegócios em diferentes escalas, atendendo a interesses de pequenos e grandes produtores, dando oportunidade para a criação de novos empregos no campo, e ainda, uma preocupação com a redução do nível de emissões principalmente nos grandes centros urbanos e um comprometimento no sentido de reduzir o chamado efeito estufa na atmosfera, e suas consequências.

Atualmente, três tipos de biocombustíveis têm sido gerados em proporções comerciais: biogás, biodiesel e bioetanol.

Biogás

O biogás, conhecido como o gás dos pântanos, foi descoberto por Shirley em 1667 e é produzido por microorganismos através de processo de digestão anaeróbica de matéria orgânica, em ambientes naturais como oceanos, manguezais, pântanos e outros corpos de água doce, ou ainda em atividades antropogênicas, como plantações de arroz alagado, tratamento de efluentes industriais, aterros sanitários, etc.

Nos últimos anos, a produção de biogás tem sido fortemente implementada em países europeus com subsídios econômicos para geração de eletricidade. Na Alemanha e na Suécia, o biogás vem sendo usado como biocombustível automotivo.

Em propriedades rurais a produção de biogás pode ser desenvolvida em um equipamento denominado biodigestor, que é formado por uma câmara fechada, onde se coloca a matéria orgânica (afluente), dissociada em uma solução aquosa (geralmente 8,0% (m/v)) que será então decomposta por bactérias, através do processo de digestão anaeróbica, produzindo o biogás, que acumula na porção superior (gasômetro) do biodigestor. Além do biogás, o processo gera a produção de um efluente que ainda contém um alto teor de matéria orgânica, parcialmente decomposta, que é utilizado como biofertilizante, lançado em áreas de lavoura, reduzindo o consumo de insumos agrícolas.

Segundo BARRETO & CAMPOS (2009), a digestão anaeróbia ou fermentação metanogênica é um processo que envolve a participação de grupos de bactérias fermentativas hidrolíticas, fermentativas acidogênicas, acetogênicas e metanogênicas, as quais são as responsáveis pela produção de metano.

A composição do biogás varia de acordo com as características do tipo de resíduo empregado (esterco, resíduos de lavouras, resíduos florestais, etc) e as condições de operação do biodigestor. Os principais constituintes do biogás são o



metano (60-80% v/v) e o dióxido de carbono (20-40% v/v); outros gases, como sulfeto de hidrogênio, nitrogênio, hidrogênio e monóxido de carbono, também podem compor o biogás, porém em menores concentrações.

O processo contínuo de produção de biogás já é bem conhecido, em especial a geração de gás metano a partir de esgotos sanitários e de dejetos de animais. ESPERANCINI *et al.* (2007) desenvolveram um projeto de biodigestor utilizando esterco de suínos com 20% de sólidos totais. Preparou-se uma solução contendo 8% de sólidos totais, utilizando-se 123 kg de esterco suíno e 184 litros de água, totalizando mistura de 307 L, com tempo de retenção hidráulica (TRH) de 50 dias. Atingiu-se produção de 43 m³ de biogás por dia, o que atenderia, segundo os autores, as necessidades energéticas de cinco residências. Os resultados indicaram que os custos de implantação do projeto seriam pagos em 2,5 anos.

Outros estudos abordam o uso de resíduos agrícolas como fonte de biomassa na geração do biogás. Em uma empresa de Santa Catarina, para cada tonelada de banana industrializada, aproximadamente três toneladas de pseudocaule, 160 kg de engaços, 480 kg de folhas e 440 kg de cascas são gerados. Em um trabalho desenvolvido com esses restos de produção, o rendimento máximo em biogás, obtido em biodigestor de bancada, foi de 244 L_{CNTP} kg⁻¹ ST (sólidos totais), com 66,8% v.v⁻¹ de CH₄. Os autores sugeriram que o aproveitamento desses resíduos na produção de biogás, não só possibilitaria a redução da poluição ambiental, devido ao acúmulo de resíduos no campo, mas também permitiria agregar valor à cultura da banana, uma vez que o custo com fornecimento de energia acaba sendo reduzido.

Esses resultados e muitos outros demonstram que a produção de biogás no meio rural pode ser de grande valia, na redução dos custos com energia, na redução dos custos com insumos agrícolas e na melhoria da qualidade do solo e água, uma vez que os resíduos de produção deixariam de ser acumulados por longos períodos, ou descartados em locais inadequados. Nos centros urbanos, o uso de biogás, produzido a partir de aterros sanitários, ou estações de tratamento de esgotos, pode contribuir para a redução do consumo de derivados de petróleo no transporte público.

Biodiesel

No final do século XIX, os óleos vegetais começaram a ser estudados por R. Diesel como combustíveis alternativos, porém nestes primeiros estudos o óleo era utilizado na sua forma bruta, como extraída das plantas. O uso direto nos motores apresentava muitos problemas, como o acúmulo de material oleoso nos bicos de injeção, a queima do óleo era incompleta, formavam-se depósitos de carvão na câmara de combustão, o rendimento de potência era baixo e, como resultado da queima, havia liberação de acroleína (propenal), um composto tóxico.

Em 1937, o belga Charles George Chavanne criou um método para transformar óleo vegetal em biodiesel através da chamada reação de transesterificação.

Atualmente o biodiesel é produzido a partir de reações de transesterificação de triglicerídeos de fontes biológicas renováveis, como óleos e gorduras animais e vegetais. É um produto biodegradável, com baixo grau de toxicidade e de emissões.

Na transesterificação de óleos vegetais, um triglicerídeo reage com um álcool (metanol ou etanol) na presença de um catalisador que pode ser ácido, básico, metálico ou biológico, produzindo uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol.

Na indústria geralmente se emprega o metóxido de sódio como catalisador, ou uma mistura de ácido sulfúrico, ou hidróxido de sódio, e um álcool (metanol ou etanol). Após o processo, formam-se duas fases. Quando se empregam óleos refinados, como o óleo de soja comercial, essas fases se separam em proporções volumétricas equivalentes (1:1) sendo que após a reação, a fase inferior contém glicerina, álcool, água e sais derivados do catalisador e do ácido mineral empregados no processo. A fase mais leve (superior) é obtida, contendo aproximadamente 40% do volume em ácidos graxos livres e 60% de ésteres alquílicos de ácidos graxos.

Na produção de biodiesel podem ser utilizadas fontes de qualquer óleo vegetal como óleo de soja, algodão, dendê, mamona e pinhão manso, óleos produzidos por microrganismos, óleos de fritura, gorduras naturais ou artificialmente hidrogenadas, sebo bovino, banha, gordura de frango, óleos de peixes.

Porém, a composição da matéria-prima, principalmente em relação ao padrão de ácidos graxos predominantes irá refletir sobre as propriedades físico-químicas do biocombustível, afetando a queima no motor, a formação de depósitos no sistema de injeção e ainda o tipo e a quantidade de substâncias ou gases poluentes emitidos.

Atualmente, fatores como a geografia, o clima e a economia determinam o óleo vegetal de maior interesse para uso potencial na produção de biocombustíveis. Assim, nos Estados Unidos, por exemplo, o óleo de soja é considerado como matéria-prima primordial e, nos países tropicais, o óleo de palma. No Brasil, o óleo de soja, palma e mamona são geralmente os mais utilizados, porém muitas outras fontes da flora brasileira têm potencial de utilização.

LIMA *et al.* (2007) demonstraram que as propriedades físico-químicas dos biodieseis metílicos e etílicos do óleo de babaçu estão de acordo com os limites estabelecidos pela Agência Nacional de Petróleo (ANP), sendo, nestes termos, possível utilizá-lo puro ou misturado ao diesel, em motores com ciclo diesel.



O uso de biodiesel como aditivo ao óleo diesel pode ser feito em várias proporções (“blends”), sendo as misturas chamadas de B5, B10, B20, conforme o teor de biodiesel presente na mistura. O uso de biodiesel e diesel em determinadas proporções mostra o mesmo consumo que o observado com o diesel comum. FERRARI *et al.* (2005) demonstraram que o biodiesel produzido a base de soja pode ser mais econômico ou similar ao diesel comum, em testes realizados com o rendimento de um gerador.

Além do biodiesel gerado, há ainda na reação de transesterificação, a produção de glicerol, ou glicerina. Para cada 9 kg de biodiesel produzido, cerca de 1 kg de glicerol bruto é formado. Este produto é então encaminhado para outros setores industriais, sendo utilizado na produção de alimentos, produtos farmacêuticos, cosméticos, tintas, papel, explosivos, entre outros.

Nas últimas décadas, estudos têm mostrado que o biodiesel pode também ser extraído a partir de microalgas. Estes organismos oferecem facilidade de cultivo em sistemas abertos ou fechados, quantidade elevada de lipídeos devido a alta taxa de fotoconversão, viabilidade de manipulação genética em curto espaço de tempo, crescimento rápido de biomassa e produção de biodiesel o ano todo.

Segundo LEE (2001), as algas podem ser cultivadas em sistemas abertos ou fechados. Nos sistemas abertos, as algas são mantidas em tanques abertos a luz do sol, e a água é movimentada através de pás mecânicas. Nos sistemas fechados, as algas são mantidas em tubos de acrílico ou material similar, com centenas ou quilômetros de comprimento, interligados entre si. Neste sistema as algas ficam isoladas do meio externo, e bombas geram o deslocamento de água, nutrientes e das próprias algas ao longo do sistema.

Após o cultivo, as algas passam por um filtro e a biomassa é conduzida para a extração dos lipídeos. Esses podem ser extraídos por processos químicos utilizando solventes como benzeno, éter ou *n*-hexano. Outros métodos utilizam enzimas ou choque osmótico, gerando o rompimento das algas.

O teor de lipídeos nas algas varia entre 1 e 70%, mas sobre certas condições os teores podem atingir 90% do peso seco.

A alta taxa de fotoconversão, uma característica comum nas algas, gera uma alta produtividade de óleo por hectare, sendo muito superior à das plantas. Isso é explicado em parte, pelo fato de que a energia produzida pela planta através da fotossíntese, é utilizada em grande parte para o desenvolvimento do corpo da planta, que ainda precisa atingir a fase adulta, florescer e frutificar. Em muitas espécies de algas, a estrutura unicelular ou filamentosa, depende de menor consumo de energia, e conseqüentemente grande parte da energia absorvida na fotossíntese pode ser armazenada, por exemplo, na forma de lipídeos, que são então extraídos para a produção de biodiesel.

Também é importante lembrar que o cultivo de algas para a produção de biocombustíveis, torna-se interessante à medida que pode ser desenvolvido utilizando-se CO₂ emitido por uma indústria, reduzindo a taxa de emissões de gases do efeito estufa; pode ser desenvolvido em águas residuais, removendo elementos como NH₄⁺, NO₃⁻, PO₄³⁻, que de outra forma ao serem lançados em corpos d’água contribuiriam para processos de eutrofização e perda da qualidade da água; o cultivo pode ainda ser desenvolvido em áreas inadequadas para a agricultura, como regiões semidesérticas; e a biomassa após extração do óleo, pode ser destinada a produção de ração animal, outros biocombustíveis como etanol e biogás, fertilizantes, entre outros produtos.

Etanol

Entre os álcoois que podem ser utilizados comocombustíveis para motores estão o metanol(CH₃OH), etanol(C₂H₅OH), propanol (C₃H₇OH), butanol (C₄H₉OH). Contudo apenas os dois primeiros são técnica e economicamente adequados como combustíveis para veículos automotores.

O etanol ou álcool etílico produzido por hidrólise e depois por processos de fermentação é denominado bioetanol. As matérias-primas destinadas a produção de bioetanol podem ser divididas em três grupos principais: (1) fontes de sacarose (cana de açúcar, beterraba açucareira, sorgo doce), (2) fontes de amido (milho, sorgo, trigo, arroz, batata, mandioca, batata-doce e cevada), e (3) biomassa lignocelulósica (madeira, palha e restos de culturas).

O bioetanol é uma necessidade para a usina açucareira, já que não é econômico extrair todo o açúcar (sacarose) contido no caldo de cana. Durante a produção do açúcar, formam-se as chamadas “águas-mães da cristalização” (melaço) com as quais a usina realiza a fermentação e, deste modo, aproveita todo o açúcar contido na planta. A fermentação da sacarose é realizada utilizando-se *Saccharomyces cerevisiae*. Uma suspensão contendo cerca de 28% de células da levedura é adicionada ao reator de fermentação, juntamente com o caldo da cana esterilizado. A reação química é composta por hidrólise enzimática da sacarose seguida da fermentação de açúcares simples. Inicialmente, a enzima invertase da levedura catalisa a hidrólise da sacarose produzindo glicose e frutose. Depois, a zimase, outra enzima, também presente na levedura, converte a glicose e a frutose em etanol. A taxa de conversão de sacarose em álcool atinge cerca de 90%. Após a destilação, obtém-se um etanol hidratado (92-93%).



A energia necessária para efetuar principalmente a moagem da cana-de-açúcar, nas centrífugas e na etapa da destilação, é fornecida pela queima do bagaço nas caldeiras da usina. Nas usinas mais eficientes, esta queima do bagaço gera saldo positivo de energia, que é convertida em energia elétrica e vendida para as concessionárias de eletricidade.

O Brasil é o maior exportador mundial de etanol e o segundo maior produtor depois dos Estados Unidos. Todo o bioetanol do Brasil é produzido a partir de cana-de-açúcar, a maior parte é usada internamente substituindo 40% do consumo de gasolina e cerca de 20% é exportada para os Estados Unidos, União Europeia e outros mercados. No Brasil, o bioetanol é usado puro ou misturado à gasolina em uma proporção contendo 24% de bioetanol e 76% de gasolina. Em 2010, a *Environmental Protection Agency* (EPA), nos Estados Unidos, designou o etanol de cana-de-açúcar como biocombustível avançado, capaz de reduzir as emissões de gases do efeito estufa (GEE) em pelo menos 61% em comparação com a gasolina.

O bioetanol é um combustível alternativo, atraente, pois é um recurso renovável e é oxigenado, assim, apresenta potencial para reduzir emissões de partículas em motores de ignição por compressão. A presença de oxigênio no bioetanol melhora a combustão e, portanto, reduz as emissões de hidrocarbonetos, monóxido de carbono, e de partículas.

O bioetanol tem ainda um maior número de octanas, limite mais amplo de inflamabilidade e maior calor de vaporização do que a gasolina. Estas propriedades permitem uma maior taxa de compressão, menor tempo e melhor queima no motor, vantagens sobre a gasolina em um motor de combustão interna.

Contudo a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar e do milho (biocombustíveis de primeira geração) consome grandes quantidades de insumos agrícolas, principalmente compostos nitrogenados, e agrotóxicos, que contribuem para a degradação do solo, corpos d'água e da qualidade do ar. Também exige o uso de grandes áreas agrícolas, que deixam de ser utilizadas na produção de alimentos e para outros fins. A fim de reduzir o impacto gerado pelas monoculturas de cana e milho, muitos grupos de pesquisa, em várias partes do mundo, têm investido no desenvolvimento e aprimoramento de processos para a obtenção dos chamados biocombustíveis de segunda geração, como a produção de etanol de algas, já mencionado acima, e do chamado etanol lignocelulósico.

Etanol lignocelulósico

Etanol lignocelulósico é aquele produzido a partir de diversos materiais vegetais, os quais podem ser classificados em quatro grupos: (1) resíduos florestais, (2) resíduos sólidos urbanos, (3) resíduos de papel, e (4) resíduos de culturas.

Abiodegradação de lignocelulose foi discutida pela primeira vez há apenas 40 anos. A enzima de conversão depende de um substrato específico, sem formação de produtos secundários, o que reduz a inibição dos passos seguintes do processo. No entanto, a reação catalisada pela enzima que faz a conversão de celulose em glucose é lenta a menos que a biomassa tenha sido submetida a um pré-tratamento, o que também é necessário para chegar a rendimentos elevados e para tornar o processo bem sucedido comercialmente.

Basicamente, a biomassa lignocelulósica é composta de cadeias de celulose (polissacarídeo formado por moléculas de glicose ligadas através de ligações β -1,4-glicosídicas) unidas entre si por ligações de hidrogênio. Essas longas fibras celulósicas são, por sua vez, recobertas por hemiceluloses (polissacarídeos ramificados formados principalmente por D-xilose com pequenas quantidades de L-arabinose, D-glicose, D-manose, D-galactose, ácido glucurônico e ácido manurônico) e ligninas (redes poliméricas tridimensionais formadas por unidades fenilpropânicas interligadas).

Segundo SOARES & ROSSEL (2007) entre os pré-tratamentos para degradação da biomassa lignocelulósica, estão:

- O craqueamento com vapor, no qual a biomassa é submetida a uma exposição a vapor, até atingir uma temperatura elevada (180-240°C), por tempos curtos (10 segundos ou 5 a 10 minutos) e, a seguir, efetua-se uma descompressão instantânea. O produto final apresenta hidrólise parcial das hemiceluloses, fusão da lignina e diminuição do grau de polimerização da celulose.
- O Processo Organosolv, que retira a lignina do material lignocelulósico, empregando solventes orgânicos recuperáveis.
- O aquecimento da biomassa em presença de ácido diluído, numa relação de 1 a 3% da biomassa seca e a temperaturas de até 200°C por curto tempo (segundos). Nestes processos, a conversão da hemicelulose é eficiente e conduz a uma alta recuperação dos monômeros de carboidratos. As desvantagens deste tratamento estão associadas à necessidade de requerer um pós-tratamento de neutralização da acidez com calcário, gerando como resíduo o gesso. A recuperação do gesso é complexa e, o seu descarte, representa um problema ambiental.

Há ainda pré-tratamentos utilizando processos enzimáticos que empregam celulasas como biocatalisadores de hidrólise, os quais requerem condições brandas (temperaturas próximas a 50°C, pH na faixa 4,5-6,0 e operação em pressão atmosférica normal), permitindo ainda, conversões superiores às obtidas pela hidrólise química. Entre as vantagens desses processos estão a menor destruição de açúcares e menor acúmulo de inibidores de fermentação. As principais barreiras aos



processos enzimáticos são: o custo muito elevado das enzimas, o longo tempo para se obter altos rendimentos e um alto consumo energético para manter os grandes volumes em agitação e aquecidos por 48 a 96 horas.

A maioria dos processos e tecnologias para os biocombustíveis de segunda geração a partir de resíduos de biomassa ainda está num estágio pré-comercial, mas podem entrar no mercado num futuro próximo. A matéria-prima é abundante, barata e facilmente encontrada, o que é um incentivo para seu aproveitamento, permitindo a produção de combustíveis valiosos, compostos químicos, eletricidade e calor, conduzindo a produção de energia sustentável com melhores desempenhos ambientais e econômicos, através do desenvolvimento dos conceitos de biorrefinarias.

Finalizando, é sempre bom lembrar que apesar dos benefícios gerados pelos biocombustíveis, frente aos derivados do petróleo, ambas as formas de energia geram impacto sobre o ambiente, e o homem deve continuar buscando novas formas não só de produção, mas também novas formas de economizar energia, tornando suas atividades mais sustentáveis e menos agressivas ao ambiente.

Referências bibliográficas

Antczak, S.M.; Kubiak, A.; Antczak, T.; Bielecki, S. (2009) Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. **Renew. Energy** 34: 1185-1194.

Balat M. (2007) Global bio-fuel processing and production trends. **Energy Explor. Exploit.** 25: 195–218.

Balat, M. (2011) Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conv. Manag.** 52: 858–875.

Balat, M.; Balat, H. (2009) Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Appl. Energy** 86: 2273-2282.

Barreto, A.C.; Campos, C.M.M. (2009) Avaliação de um sistema de irrigação autopropelido aplicando água residuária de suinocultura. **Ciênc.e Agrotecnol.** 33: 1752-1757.

Cascone, R. (2007) Biofuels: what is beyond ethanol and biodiesel? **Hidroc. Proces.** 95-109.

Cassini, S.T. (2003) Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do Biogás. Rio de Janeiro: **ABES/Rima**.

Chechetto; R.G.; Siqueira, R.; Gamero, C.A. (2010) Balanço energético para a produção de biodiesel pela cultura damamona (*Ricinus communis* L.). **Rev. Cienc. Agron.** 41: 546-553.

Cherubini, F.; Gerfried Jungmeier, G.; Wellisch, M.; Willke, T.; Skiadas, J.; Van Ree, R.; Jong, E. (2009) Toward a common classification approach for biorefinery systems. **Biofuels, Bioprod. Biorefin.** 3: 534-547.

Chisti, Y. (2007) Biodiesel from microalgae. **Biotechnol. Adv.** 25: 294-306.

Dabdoub, M.J.; Bronzel, J.L.; Rampin, M. (2009) Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. **Quim. Nova** 32: 776-792.

Deganutti, R.; Palhaci, M.C.J.P.; Rossi, M.; Tavares, R.; Santos, C. (2002) Biodigestores rurais: modelo indiano, chinês e batelada. In *Proceedings of the 4th Encontro de Energia no Meio Rural*. Available from: http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC000000022002000100031&lng=e&nrm=iso.

Demirbas, A. (2008) Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. **Energy Conv. Manag.** 49: 2106–2116.

Dias, M.O.S.; , Ensinas, A.V.; Nebra, S.A.; Maciel Filhoa, R.; Carlos E.V. Rossell, C.E.V.; Maciel, M.R.W. (2009) Production of bioethanol and other bio-based materials from sugarcane bagasse: Integration to conventional bioethanol production process. **Chem. Engineer. Res. Design** 87: 1206–1216.



Esperancini, M.S.T.; Colen, F.; Bueno, O.C.; Pimentel, A.E.B.; Simon, E.J. (2007) Viabilidade técnica e econômica da substituição de fontes convencionais de energia por biogás em assentamento rural do estado de São Paulo. **Eng. Agric. 27: 110-118.**

Ferrari, R.A.; Oliveira, V.S.; Scabio, A. (2005) Biodiesel de soja – Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Quim. Nova: 28: 19-26.**

Gardner, R.; Kazi, S.; Ellis, E.M. (2004) Detoxication of the environmental pollutant acrolein by a rat liver aldo-keto reductase. **Toxicol.Lett.148: 65-72.**

Gerpen, J. (2005) Biodiesel processing and production. **Fuel Process. Technol. 86: 1097–1107.**

GIL - Greenergy International Limited (2007) Bioethanol – a greenergy perspective. London. Disponível em <http://www.greenergy.com>.

Goldemberg, J. (2009) Biomassa e energia. **Quim. Nova 32: 582-587.**

Gujer, W. & Zehnder, A.J.B. (1983) Conversion processes in anaerobic digestion. **Water Sci. Technol. 15: 127–167.**

Haas, M.J.; Scott, K.M.; Alleman, T.L.; McCormick, R.L. (2001) Engine Performance of Biodiesel Fuel Prepared from Soybean Soapstock: A High Quality Renewable Fuel Produced from a Waste Feedstock. **Energy Fuels 15: 1207-1212.**

Hansen, A.C.; Zhang, Q.; Lyne, P.W.L. (2005) Ethanol–diesel fuel blends— a review. **Bioresource Technol. 96: 277–85.**

Krawczyk, T. (1996) Biodiesel -Alternative Fuel makes in roads but hurdles remain. **Inform 7: 801-829.**

Lee, Y.K. (2001) Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. **J. Appl. Phycol. 13: 307–315.**

Leite, R.C.C.; Leal, M.R.L.V. (2007) O Biocombustível no Brasil. **Novos Estudos 78: 15-21.**

Li, Y.; Horsman, M.; Wu, N.; Lan, C.Q.; Dubois-Calero, N. (2008) Biofuels from microalgae. **Biotechnol. Progr. 24: 815–820.**

Lima, J.R.O.; Rondenelly, B.S.; Silva, C.C.M.; Lucas, L.S.S.; Santos Jr., J.R.; Moura, E.M.; Moura, C.V.R. (2007) Biodiesel de babaçu (*Orbignya* sp.) obtido por via etanólica. **Quim. Nova 30: 600-603.**

Ma, F.; Hanna, M. A. (1999). Biodiesel production: a review. **Bioresour. Technol. 70: 1-15.**

Mata, T.; Martins, A.; Caetano, N.S. (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renew. Sustain. Energy Rev. 14: 217–232**

Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y.Y.; Holtzaple, M.; Michael Ladisch, M. (2005) Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresour. Technol. 96: 1986–1993.**

Oliveria M.E.D.; Vaughan B.E.; Rykiel Jr., E.J. (2005) Ethanol as fuel: energy, carbon dioxide balances, and ecological footprint. **BioScience 55: 593–602.**

Pereira, C.M.P.; Hobuss, C.B.; Maciel, J.V.; Ferreira, L.R.; Del Pino, F.B.; Mesko, F.M. (2012) Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas. **Quim. Nova 35: 2013-2018.**

Rodrigues, J.A.R. (2011) Do engenho à biorrefinaria. a usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. **Quim. Nova 34: 1242-1254.**

Smith A.M. (2008) Prospects for increasing starch and sucrose yields for bioethanol production. **Plant J. 54:546–558.**



Soares, A.; Rossell, C.E.V. (2007) Conversão da Celulose pela tecnologia Organosolv. NAIPE/USP. Disponível em: http://www.naipe.fm.usp.br/arquivos/livros/Livro_Naipe_Vol3.pdf. Acesso em 30.03.2013.

Souza, O.; Federizzi, M.; Coelho, B.; Wagner, T.M.; Wisbeck, E. (2010) Biodegradação de resíduos lignocelulósicos gerados na bananicultura e sua valorização para a produção de biogás. **Rev. Bras. Eng. Agr.Amb.14: 438–443.**

Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambert, A. (2006) Commercial applications of microalgae. **J. Bioscience Bioengineer. 101: 87–96.**

Ture, S.; Uzun, D.; Ture, I.E. (1997)The potential use of sweet sorghum as a non-polluting source of energy. **Energy 22: 17–19.**

World Energy Assessment - WEA (2000) Energy and the challenge of sustainability, United Nations Development Programme, United Nations Development of Economic and Social Affairs and World Energy Council.

Wyman, C. E.; Decker, S. R.; Himmel, M. E.; Brady, J. W.; Skopec, C. E.; Viikari, L. (2005)Hydrolysis of cellulose and hemicellulose.In: Polysaccharides: Strutral Diversity and Functional Versatility (Dumitriu, S., ed.) **Dekker**: New York.



Anotações:



Origem e Evolução das Plantas Cultivadas

Augusto Tomba

O estudo das possíveis origens e dos processos evolutivos relacionados às plantas cultivadas nos dias atuais é tema de investigação de diversas disciplinas científicas (arqueologia, antropologia, paleontologia, biologia sistemática, genética, linguística, etnobiologia), e de relevância fundamental para a compreensão de um processo histórico considerado de maior importância para o surgimento das sociedades humanas organizadas nos modos definidos como civilizados, a agricultura. Neste texto é apresentado um resumo do estado do conhecimento sobre as origens da agricultura, o processo de domesticação de plantas por ações humanas, os processos evolutivos relacionados ao surgimento das principais plantas cultivadas e as inferências sobre suas mais prováveis regiões de origem a partir de suas distribuições biogeográficas.

1. Agricultura, cultivo e domesticação

Para o melhor entendimento do tema tratado, serão apresentadas as definições de agricultura, domesticação e cultivo. Três elementos fundamentais ao surgimento e à evolução das plantas cultivadas, que apresentam relações ainda pouco claras entre si. Sabemos que a agricultura é dependente do cultivo, mas a agricultura nem sempre surge vinculada à domesticação de plantas.

Agricultura pode ser definida no seu sentido mais amplo como uma estratégia de subsistência baseada no manejo de plantas selvagens ou domesticadas. A agricultura é constituída de um conjunto de comportamentos humanos que afetam os ambientes habitados por plantas, domesticadas ou não, que alteram todas as fases de seu ciclo de vida. A agricultura implica em cultivo, mas não um evento dependente da adoção de procedimentos de domesticação de plantas.

O cultivo compreende o conjunto de tratamentos dispensados na propagação de uma determinada espécie, sem nenhuma implicação de seleção intencional de características desejáveis às condições de condução desse processo, visando sua sobrevivência e reprodução. O cultivo compreende as atividades físicas relacionadas à agricultura.

A domesticação é um processo baseado em alterações genéticas promovidas sobre a população em processo de domesticação que a torna melhor adaptada ao ambiente criado pelo cultivo, mas ao mesmo tempo mal adaptada ao seu habitat original em ambiente selvagem. De modo geral, pode-se dizer que a domesticação das espécies é um processo de modificação do genótipo de maneira contínua, evolutiva, efetuado inconscientemente pelo homem e de forma relativamente rápida. Nos últimos anos, foram desenvolvidos modelos matemáticos baseados em estimativas empíricas de coeficientes de seleção, os quais indicam que a domesticação de uma espécie não necessita de centenas ou milhares de anos, podendo ocorrer em um período estimado entre 20 e 100 anos. A domesticação de plantas é dependente na adoção inicial de práticas de cultivo.

2. Origens da agricultura

O surgimento das plantas cultivadas é um evento recente, que se estima ter sido iniciado a cerca de 11.000 anos, no início do período Neolítico, coincidindo com o surgimento da agricultura. É reconhecido que este evento revolucionário promoveu uma alteração radical na dieta, no modo de vida e na estrutura das sociedades humanas envolvidas, mais notadamente no Oriente Próximo.

Evidências arqueológicas sugerem que as práticas agrícolas primitivas surgiram em períodos distintos em pelo menos seis regiões do planeta, de modo independente. Sendo considerados centros de origem da agricultura, onde quatro deles, centros do Oriente-Próximo, Centro-Americano, Chinês e Sul-Americano, são considerados centros que promoveram grande irradiação dessas práticas.

➤ Centro do Oriente-Próximo

Constituiu-se na região hoje compreendida pela Síria e pela Palestina, e talvez, mais amplamente no conjunto do Crescente Fértil, com surgimento estimado entre 10.000 e 9.000 anos antes do presente.

➤ Centro Centro-Americano

Foi estabelecido no sul do México entre 9.000 e 4.000 anos antes do presente.



➤ **Centro Chinês**

Construiu-se, em princípio, há 8.500 anos, no norte da China, nos terraços de solo siltosos (loess) do médio rio Amarelo, e depois se completou estendendo-se para nordeste e sudeste, entre 8.000 e 6.000 anos antes do presente.

➤ **Centro Neo-guineense**

Teria surgido, provavelmente, no coração de Papua-Nova Guiné há 10.000 anos antes do presente.

➤ **Centro Sul-Americano**

Deve ter se desenvolvido nos Andes peruanos ou equatorianos há mais de 6.000 anos antes do presente.

➤ **Centro Norte-Americano**

Instalou-se na bacia do médio Mississipi entre 4.000 e 1.800 anos antes do presente.

O surgimento da agricultura em locais tão distintos, em períodos diversos tem uma íntima relação com as proposições hipotéticas dos mais prováveis locais de origem das plantas cultivadas, como será apresentado mais adiante.

3. Cultivo e domesticação de plantas

O cultivo pode ser caracterizado por três estágios distintos: (1) adoção inicial dos tratos culturais, (2) dispersão dentro da zona de domesticação e (3) dispersão para zonas adjacentes e zonas distantes. Esses estágios podem apresentar diferentes níveis de complexidade operacional, seletividade, e, de acordo com registros arqueológicos, se apresentam frequentemente numa série linear da sua adoção, iniciada dentro da zona de domesticação, e finalizada com a dispersão para zonas sem nenhuma conexão com aquela primeira região.

A domesticação compreende um conjunto de eventos mais complexos que o cultivo. São reconhecidos cinco padrões de domesticação de plantas, de acordo com a classificação de Ladizinsky (1998), que serão apresentados detalhadamente a seguir.

Padrões de domesticação

➤ **Domesticação de culturas primárias**

Definem-se culturas primárias aquelas cujos progenitores selvagens foram deliberadamente cultivados pelo homem e, subsequentemente sofreram modificações genéticas em seu novo ambiente. A domesticação antes do cultivo parece pouco provável com os cereais, onde exemplares contendo características favoráveis à exploração humana teriam surgido na natureza, que foram então selecionados pelo homem, por exemplo, as melancias selvagens têm sabor amargo, assim, provavelmente passaram a ser cultivadas após a descoberta pelo homem de tipos mais doces.

➤ **Domesticação de culturas secundárias**

Culturas secundárias são aquelas que evoluíram a partir de modificações (mutações) ou por se apresentarem mais promissoras à mudança de ambiente, e assim despertaram o interesse do homem. As culturas secundárias evoluíram a partir de plantas daninhas, que infestavam campos cultivados por culturas primárias. Essas plantas nunca foram cultivadas num plantio deliberado, mas se tornaram totalmente domesticadas por um processo inconsciente, onde ocorriam simultaneamente à cultura primária, se beneficiando das condições de cultivo, e devido a sua produtividade superior à da cultura primária, passaram a ser alvo de seleção humana.

➤ **Domesticação gradual**

Este tipo de domesticação é característico de hortaliças, plantas que apresentam reservas em tubérculos e rizomas, além de algumas espécies arbóreas. Diferentemente das culturas exploradas para a obtenção das sementes, onde a domesticação é claramente marcada pelo estabelecimento de indivíduos que retêm as sementes maduras, essas plantas não apresentam uma característica única que possa distingui-las de plantas silvestres relacionadas. A seleção de características desejáveis nesse grupo de plantas foi lenta e gradual e ocorreu, assim como em muitos cereais, múltiplas seleções



decaracteres a partir do estabelecimento de uma cultura primária. Por serem propagadas majoritariamente por vias vegetativas, o que facilita a manutenção de características já selecionadas, essas plantas sofreram transformações predominantemente a partir de mutações somáticas.

➤ **Domesticação deliberada**

Muitas plantas de cultivo agrícola foram domesticadas a milhares de anos atrás. Um pequeno número foi domesticado recentemente por cultivo seletivo a partir de populações selvagens. Como exemplo disso temos a macadamia (*Macadamia integrifolia*) o kiwi (*Actinidia deliciosa*), cranberries, blueberries, lingoberries (*Vaccinum spp.*) e jojoba (*Simmondsia chinensis*), as quais foram domesticadas ao longo do século XX. Essas plantas apresentam em comum um padrão de seleção e domesticação rápido e consciente.

➤ **Múltiplas domesticações**

Domesticações independentes surgindo em locais distintos, em tempos diferentes, podem ocorrer a partir da mesma espécie selvagem para propósitos distintos ou a partir de espécies diferentes para o mesmo propósito.

O primeiro caso pode ocorrer quando o progenitor selvagem ocorre em duas regiões geográficas distintas e isoladas entre si. O feijão é um exemplo desta condição de domesticação.

O segundo ocorre quando progenitores distintos são domesticados para um fim comum. Como exemplo disso temos o trigo, onde três espécies distintas (*Triticum monococcum*, *T. turgidum* e *T. timopheevi*) foram domesticadas no Oriente Médio para o mesmo fim.

4. Síndrome da domesticação, seleção natural e seleção humana.

As espécies domesticadas, quando comparadas aos seus ancestrais selvagens, apresentam uma série de modificações genéticas, morfológicas, fisiológicas e fenológicas resultantes da seleção humana empreendida sobre elas. Entre essas modificações, conhecidas como síndromes da domesticação observam-se a perda de dormência e aumento no tamanho das sementes, mecanismos de dispersão ineficientes, hábito de crescimento determinado, arquitetura mais compacta e mais uniforme, aumento do número de sementes por inflorescência, bem como a redução de concentrações de substâncias tóxicas.

Durante a domesticação das plantas, os processos genéticos: mutação, hibridação interespecífica e poliploidia ocorreram majoritariamente de modo natural. A principal contribuição feita pelo homem foi a seleção direcionada aos seus interesses. A seleção ocorre quando um indivíduo deixa mais descendentes que outro, sendo relativamente mais apto à sobrevivência no ambiente em questão. A seleção muda a frequência alélica, e consequentemente, a frequência genotípica, sendo fundamental à evolução e à domesticação.

Como foi proposto por Harlan (1992) a síndrome da domesticação seria consequência de um longo período de intervenções humanas sobre o ciclo de vida de plantas cultivadas, a chamada seleção humana, que se antagoniza à seleção natural, visto que ela promove redução da diversidade genética, em vez de seu aumento.

5. Bases genéticas da domesticação de plantas

Partindo dos preceitos da genética moderna, qualquer alteração das frequências alélicas de um gene ou de um conjunto deles, numa população de uma determinada espécie ao longo de gerações, é um processo evolutivo. Porém, no caso das plantas cultivadas, além dos agentes promotores dos processos evolutivos existentes na natureza, aos quais todos os seres vivos estão sujeitos, um elemento adicional foi incorporado: a seleção humana.

➤ **Seleção Natural X Seleção Humana**

Seleção é a ação natural ou artificial promovida sobre uma determinada população, capaz de alterar suas frequências alélicas, e consequentemente, as frequências genotípicas, pelo fato de apenas alguns indivíduos contribuírem para a formação das gerações seguintes.

O conceito de seleção natural estabelece *a priori* que:



- (1) Existe variabilidade genética nas populações das espécies de seres vivos;
- (2) Há uma pressão seletiva, promovida pela própria biota ou pelo ambiente;e.
- (3) Ocorre a transmissão de caracteres aos descendentes.

Desse modo, a variabilidade genética presente em uma população sofre ação de pressões seletivas, que favorecem a transmissão de características herdáveis mais adaptadas ao ambiente habitado por essa população. Por consequência, fenótipos favoráveis tornam-se mais comuns, em gerações sucessivas de uma população de organismos que se reproduzem, e que fenótipos desfavoráveis tornam-se menos frequentes. Na seleção natural, as populações são direcionadas a tornarem-se mais aptas ao ambiente onde estão inseridas, decorrente do sucesso reprodutivo diferencial dos indivíduos.

Na seleção artificial, a pressão seletiva é promovida de forma intencional ou inconsciente, visando à melhoria das características da espécie alvo para interesses e necessidades humanas. A seleção humana é parte do processo de domesticação.

A seguir, serão descritos os principais agentes promotores de diversidade genética, que constituem elementos fundamentais à seleção natural e à seleção humana.

6. Forças evolutivas promotoras de diversidade relacionadas à origem das plantas cultivadas

➤ **Mutação**

A mutação é o único processo genético que cria variabilidade (cria novos alelos). É definida como qualquer alteração na sequência de nucleotídeos, bem como na estrutura e número de cromossomos. Essas alterações podem ocorrer espontaneamente na célula, ou pela ação de substâncias mutagênicas, radiações ionizante ou ultravioleta. As mutações têm por consequências possíveis a substituições errôneas nas sequências de bases nitrogenadas, além de alterações numéricas e estruturais nos cromossomos.

A mutação é dividida em diferentes tipos:

- (1) mutação gênica ou mutação de ponto, onde as modificações ocorrem nas bases nitrogenadas do DNA;
- (2) as mutações extra nucleares, as quais ocorrem nas bases nitrogenadas do DNA de organelas do citoplasma (mitocôndrias e cloroplastos);
- (3) mutações cromossômicas, que compreendem alterações tanto na estrutura (deleção, duplicação, inversão e translocação) quanto no número de cromossomos (aneuploidia e euploidia).

Um exemplo da importância das mutações no processo de domesticação de plantas é o arroz (*Oryza sativa*). Durante sua domesticação, a mutação sofrida por apenas um par de bases na sequência do gene *sh4* provocou a alteração de um aminoácido de uma proteína estrutural, que resultou na redução da capacidade de degrana natural da espécie. Essa mutação previne sementes completamente maduras de se desprenderem da panícula, o que permite uma colheita mais eficiente.

➤ **Dispersão**

Chama-se dispersão ao conjunto de processos que possibilitam a fixação de indivíduos de uma espécie em locais diversos daqueles habitados por seus progenitores. A dispersão dos organismos se constitui em dois importantes fenômenos, a migração e a colonização. A migração compreende um processo lento, no qual os indivíduos de uma espécie se dispersam de forma lenta e gradual por uma nova área, aumentando os limites de sua distribuição geográfica. Na ocupação de novas áreas, o sucesso do aumento da distribuição geográfica é dependente da resistência às condições ambientais diferentes das apresentadas pelo habitat original, e do estabelecimento de populações reprodutivamente viáveis no local, que compreende o conceito de colonização. Esses fatores favorecem a ocorrência de fluxo gênico, e assim, permitem que outros mecanismos, como hibridação, deriva genética e seleção natural, possam atuar nos processos de adaptação e especiação.



➤ Fluxo gênico

O fluxo gênico é uma migração de genes entre populações. O efeito destas transferências de genes entre populações depende da diferença nas frequências gênicas nas populações e da proporção de indivíduos migrantes. O fluxo gênico pode ser interpretado como uma medida da fertilização, no caso de pólen ou estabelecimento de indivíduos férteis; no caso de sementes, em razão da distância percorrida da fonte até o local onde a dispersão ocorreu. Quando um indivíduo migra de uma população para outra, ele carrega genes que são característicos de sua população ancestral para a população recipiente. Em caso de sucesso em seu estabelecimento, e realização de cruzamentos, ele irá transmitir esses genes entre as populações. Diversos estudos têm demonstrado os seus efeitos ao longo do processo de domesticação das plantas cultivadas, envolvendo o fluxo gênico entre espécies selvagens e cultivadas. A ocorrência de fluxo gênico entre espécies cultivadas e espécies silvestres aparentadas pode tanto aumentar a adaptabilidade da espécie cultivada, quanto reduzir a aptidão da espécie silvestre pela introgressão de alelos que conferem características desfavoráveis.

➤ Hibridação

Hibridação é a fusão de gametas geneticamente distintos, que resulta em indivíduos híbridos heterozigóticos para um ou mais alelos. A hibridação natural é definida como o acasalamento natural entre indivíduos de duas ou mais populações, é um dos eventos de maior importância evolutiva, e dependente do fluxo gênico e da dispersão. A hibridação pode promover a fusão de gametas de diferentes espécies (hibridação interespecífica), podendo ainda favorecer o surgimento de uma nova espécie a partir de eventos de hibridação. A seguir, serão detalhados os casos de hibridação interespecífica e especiação híbrida.

➤ Hibridação interespecífica

Na hibridação interespecífica o cruzamento ocorre entre indivíduos de espécies distintas, porém filogeneticamente relacionadas. Esse tipo de hibridação foi muito importante no surgimento de várias espécies cultivadas. Como exemplo, temos a origem do morango comercial. O morangueiro (*Fragaria x ananassa*) produzido atualmente é resultado do cruzamento entre duas espécies selvagens de morango, *Fragaria virginiana*, originária da América do Norte, e *Fragaria chiloensis*, originária das regiões frias do sul da América do Sul. Esse cruzamento foi feito na Europa no século XVIII e resultou em plantas com frutos de maior tamanho e melhor qualidade.

➤ Especiação híbrida

Especiação híbrida refere-se a um evento de especiação em que a hibridização favoreceu o surgimento de uma nova espécie. Geralmente, uma nova espécie é formada quando duas delas se cruzam e o genoma do híbrido é duplicado, formando um alopoliplóide. Esse processo pode se repetir de modo a formar espécies com mais de dois genomas diferentes.

O trigo (*Triticum aestivum*) é um caso bastante estudado de especiação híbrida. Trata-se de uma espécie constituída de três genomas distintos (AABBDD), originados do cruzamento inicial entre *T. monococcum* (AA) e *T. searsii* (BB), que por sua vez, teve em seu híbrido fértil F1, o número de cromossomos duplicado, formando a espécie *T. turgidum* (AABB). *T. turgidum* sofreu uma nova hibridação com *T. tauschii* (DD), formando o trigo comercial (AABBDD).

➤ Poliploidia

Poliploidia se refere a células ou organismos que contenham mais de duas cópias de cada um de seus cromossomos. Os tipos de poliploides são divididos de acordo com o número de conjuntos de cromossomos, presentes em seu núcleo, em: triploides (3X), tetraploides (4X), pentaploides (5X), hexaploides (6X), etc. A poliploidia foi um importante elemento no processo de domesticação das plantas cultivadas. Em geral, plantas poliploides são mais vigorosas, com frutos e sementes maiores. Alguns autores sugerem que durante a domesticação, plantas poliploides que geralmente são mais vigorosas, foram preferencialmente selecionadas. Muitas espécies cultivadas parecem ter sido selecionadas para um maior nível de ploidia de modo intencional:

- Culturas triploides: banana, algumas variedades de maçã.
- Culturas tetraploides: trigo duro, algodão, batata, café arábica.
- Culturas hexaploides: trigo, triticale.
- Culturas octoploides: morango.
- Culturas com vários níveis de ploidia: cana-de-açúcar.



Quanto à sua origem, os poliploides podem ser divididos em dois tipos: autopoliploides e alopoliploides. Nos autopoliploides os conjuntos de cromossomos são originários de uma única espécie. Nessas espécies ocorre aumento do tamanho de folhas, flores e frutos. As espécies autopoliploides, em geral, apresentam baixa fertilidade devido a problemas de pareamento dos cromossomos na meiose. Por isso, a autopoliploidia é muito associada a espécies de propagação predominantemente vegetativa.

Nos alopoliploides, os conjuntos de cromossomos são originários do cruzamento de duas ou mais espécies filogeneticamente relacionadas. A duplicação dos cromossomos de um alopoliploide forma o anfidiplóide, que apresenta maior fertilidade que o autopoliploide. Comparada à autopoliploidia, a alopoliploidia teve um impacto mais significativo na domesticação das plantas.

➤ **Deriva genética**

A deriva genética, definida como a imprevisibilidade de variação nas frequências alélicas em uma população de tamanho reduzido, pode ocorrer tanto em populações naturais quanto em espécies cultivadas. Em plantas cultivadas, a deriva genética pode ser representada praticamente de duas formas, o efeito do fundador, quando a domesticação ocorre fora do seu centro de origem, geralmente devido ao fato de uma amostra de poucos indivíduos ser levada para colonizar outra região, e gargalo de garrafa (bottleneck), quando o tamanho de uma população é reduzido drasticamente devido ao processo de seleção feito pelo homem, sendo que sua recomposição é feita a partir de poucos indivíduos e uma quantidade restrita de alelos. Assim como a seleção humana, a deriva genética é um agente redutor da diversidade genética das populações dos organismos alvo de processos de seleção.

Em geral, a magnitude dos efeitos da deriva genética é mais acentuada sobre uma planta cultivada quando sua domesticação ocorre fora de seu centro de origem. Nessas condições, a troca de alelos com espécies selvagens aparentadas é improvável. Um exemplo disso é o tomate (*Solanum lycopersicum*), planta autógama, que apresenta registros paleobotânicos de domesticação na região sul do México, fora de seu centro de origem, na América do Sul, e tem por principal consequência o estreitamento da diversidade genética da espécie.

7. O estudo das origens das plantas cultivadas

O conhecimento dos meios pelos quais se originaram as plantas cultivadas é um tema que encanta os botânicos há muito tempo. Porém, a primeira proposição formal de uma metodologia para a elucidação da origem geográfica e das relações de parentesco das plantas cultivadas com espécies selvagens foi proposto em 1882 pelo botânico franco-suíço Alphonse de Candolle, em sua obra: *Origine des Plantes Cultivées*. Nela de Candolle declara que o centro de origem de uma planta cultivada seria o local onde esta cresce naturalmente, no seu estado selvagem. E elege como método para sua identificação a comparação morfológica entre a espécie cultivada e a espécie silvestre tida como sua aparentada.

A principal dificuldade de se obter conclusões a partir do método proposto por de Candolle reside na necessidade de uma afirmação, livre de ambiguidades, sobre o mais provável local de crescimento da espécie original em estado prévio ao seu cultivo, visto que a área assim declarada pode ser apenas uma zona colonizada pela espécie, e não o seu centro de origem. Como exemplo, temos a batata (*Solanum tuberosum*), espécie para a qual os candidatos a progenitores, provenientes do Chile, do Uruguai e do México, são espécies totalmente distintas e pouco aparentadas.

➤ **Inferências biogeográficas sobre a origem das plantas cultivadas**

A partir da metodologia proposta por de Candolle, o geógrafo e geneticista russo Nikolai I. Vavilov (1887–1943) fez diversas expedições por todos os continentes em busca de espécimes de plantas cultivadas e evidências de sua domesticação. Em 1929, baseando-se em suas observações, Vavilov propõe uma teoria sobre a origem, evolução e a distribuição biogeográfica das espécies cultivadas. Nela, sugere que a flora cultivada teria surgido e se desenvolvido em poucos centros geográficos ao longo de todo o planeta, havendo um predomínio em áreas montanhosas. Sua proposição inicial foi da existência de cinco centros de origem das plantas cultivadas. Porém, anos depois, foram propostos três novos centros e três subcentros.

Os centros de origem de plantas cultivadas propostos por Vavilov foram:

➤ **Centro Chinês**



No Centro Chinês 138 espécies cultivadas distintas foram reconhecidas, das quais as mais importantes foram: painço, trigo mourisco, cevada, soja, feijão Adzuki, mucuna, rabanete, cebola, pepino, pêra, maçã, pêssego, damasco, cereja, noz, lichia, ginseng, cânfora, cânhamo, chá.

➤ **Centro Indiano**

O centro indiano é constituído por todo o subcontinente. Nele foram identificadas 117 espécies com algum nível de domesticação e cultivo. As principais foram: berinjela, pepino, taro, inhame, sésamo, cártamo, juta, crotalária, cana-de-açúcar, pimenta preta, sândalo, cará, cominho, canela e grão de bico.

➤ **Centro da Eurásia Oriental**

Compreende os territórios os atuais Tajiquistão e Uzbequistão. Nessa região foram encontradas cerca de 40 espécies de importância agrícola. As principais são trigo mole, ervilha, lentilha, mostarda, linho, gergelim, alho, espinafre, cenoura, uva e amêndoa.

➤ **Centro do Oriente Próximo**

Incluindo as regiões entre Irã, Turcomenistão e Cazaquistão. Na região, foram encontradas cerca de 80 espécies de relevância agrícola. As principais foram o trigo duro, trigo persa, trigo oriental, duas linhagens de cevada, centeio, aveia, tremoço, trevo persa, figo, romã e marmelo.

➤ **Centro Mediterrâneo**

Esse centro compreende toda a região do mediterrâneo, onde foram encontradas 84 espécies de cultivo. Dentre elas: colza, mostarda preta, oliveira, beterraba, repolho, anis, tomilho, hortelã, sálvia, lúpulo, salsa, nabo e lavanda.

➤ **Centro Africano Oriental**

Está situado na atual Etiópia. É um centro de importância menor, por tratar-se principalmente um refúgio das culturas de outras regiões, especialmente trigo e cevada. Nesta região foram encontradas cerca de 40 espécies cultivadas, como gergelim, mamona, agrião, café, quiabo, mirra, sorgo e milheto.

➤ **Centro Mesoamericano**

Neste centro que compreende o sul do México e parte da América Central, o milho foi o principal cultivar domesticado. Nele outras plantas cultivadas, como o feijão, chuchu, amaranto, batata doce, sisal, pimentão, goiaba, caju, fumo, agave e cacau também foram encontrados.

➤ **Centro Sul-Americano**

Este centro está localizado nas regiões hoje denominadas Bolívia, Peru, Equador. Foi um importante centro para a domesticação da batata e outros tubérculos, além da coca e do quinino, o tomate, a mandioquinha e o maracujá. Nele foram encontradas 62 espécies cultivadas.

➤ **Centro da Ilha de Chiloé**

Nesse centro que fica localizado no litoral do Chile, foram encontradas apenas duas espécies, porém de grande importância, a batata e o morango.

➤ **Centro Brasileiro-Paraguaio**

Este centro compreende regiões entre o Norte e Centro-Oeste do Brasil e praticamente todo o território do Paraguai. Nele foram encontradas culturas de grande importância como a mandioca e o amendoim, além de culturas de importância menor, como seringueira, erva mate, jabuticaba, abacaxi, castanha do Pará e estévia.



Há uma correlação, embora fraca, entre os centros de origem das plantas cultivadas, propostos por Vavilov, e os centros de origem da agricultura, propostos a partir de pesquisas arqueológicas. Embora se possa notar essa convergência de evidências, uma relação mais exata entre os locais mais prováveis de origem da agricultura e a origem das plantas cultivadas ainda é alvo de muitas pesquisas e fonte de numerosas controvérsias.

8. A domesticação de plantas no século XXI

As espécies cultivadas pelo homem moderno são, salvo raras exceções, heranças de seus ancestrais primitivos. Dentre todas as plantas cultivadas e domesticadas, muitas ainda não tiveram seu potencial produtivo totalmente aproveitado. Das 7000 espécies de plantas que apresentam alguma forma de exploração agrícola, apenas 30 delas são responsáveis por 90% do consumo mundial para a obtenção de calorias. O conhecimento das relações entre espécies cultivadas e espécies silvestres aparentadas é de fundamental importância para a ampliação da base genética desses cultivares e sua conservação, assim como para o reconhecimento de novas espécies potencialmente cultiváveis. Dentre toda a diversidade de plantas selvagens catalogadas ou ainda desconhecidas, é provável que existam espécies passíveis de domesticação e úteis à exploração na alimentação humana.

Referências bibliográficas

Arnold ML. (2004). Natural hybridization and the evolution of domesticated pest and disease organisms. **Molecular Ecology** 13: 997-1007.

Diamond JM. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animals domestication. **Nature** 418: 700-707.

Duputié A; David P ; Debain C; McKay D. (2007). Natural hybridization between a clonally propagated crop, cassava and a wild relative in French Guiana. **Molecular Ecology** 16: 3025-3038.

Evans LT. (1993). The domestication of crop plants. IN: Evans LT. Crop Evolution, Adaptation and Yield. **Cambridge University Press**.

Fuller DQ. (2007). Contrasting patterns in crop domestication and domestication rates: recent archeobotanical insights from the Old World. **Annals of Botany** 100: 903-924.

Futuyma DJ. (2006). Evolutionary Biology. **Sunderland: Sinauer Associates**.

Hamarick JL; Nason JD. (1996). Consequences of dispersal in plants. In: Rhodes, O.E. et al. Population dynamics in ecological space and time. **University of Chicago**.

Hancock JF. (2004). Plant evolution and the origin of crop species. **CABI**. Harlan JR. (1992). Crops and Man. **American Society of Agronomy**.

Harlan JR. (1995). The Living Fields: our agricultural heritage. **Cambridge University Press**.

Hillman GC; Davies MS. (1990). Measured domestication rates in wild wheats and barley under primitive cultivation, and their archaeological implications. **Journal of World Prehistory** 4: 157-222.

Ladizinsky G. (1998). Plant Evolution under Domestication. **Kluwer Academic Press**.

Li C; Zhou A; Sang T. (2006). Rice domestication by reducing shattering. **Science** 311: 1936-1939.

Mallet J. (2007). Hybrid speciation. **Nature** 446: 279-283.

Miller JC; Tanksley SD. (1990). RFLP analysis of phylogenetic relationship and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and Applied Genetics** 99: 437-448.

Murphy DJ. (2007). People, Plants and Genes. **Oxford University Press**.



Purugganan MD; Fuller DQ.(2009). The nature of selection during plant domestication. **Nature 457: 843-848.**

Rindos D.(1984).The Evolution of Domestication. IN: Rindos D. The Origin of Agriculture: An Evolutionary Perspective. **Academic Press.**

Sereno M JCM; Wiethölter P; Terra TF.(2008). Domesticação das Plantas. Em: BaribieriRLe Stumpf ERT. Origem e Evolução das Plantas Cultivadas. **Embrapa Informação Tecnológica.**

Vavilov NI. (1927). Geographische Genzentrenunserer Kulturpflanzen.**Verhandlungen des V Internationalen Kongresses fur Vererbungswissenschaft: 342 – 369.**

Vavilov NI.(1992). Origin and Geography of Cultivated Plants.**Cambridge University Press.**



Anotações:



Plantas e Sociedade

Adne Abbud Righi
Bruna Silvestroni Pimentel
Natália Ravanelli

A alimentação é uma maneira de ver o mundo, através da qual demonstramos o que somos, de onde viemos e o que pensamos. A alimentação pode ser considerada como o elo entre as várias dimensões da existência humana, articulando quatro aspectos da vida em sociedade: o aspecto biológico, dado que o alimento é necessário à manutenção da vida; o aspecto econômico já que o alimento era a base de troca entre povos; o aspecto sócio-político, pois conforme as populações tornavam-se mais densas, houve a necessidade de uma organização social para que todos pudessem conviver e sobreviver e a isto está atrelada a produção de alimento; e o aspecto cultural, que gira em torno da comida encontros e festividades. O homem dá significado ao ato de se alimentar e ao alimento, para cada ocasião um tipo de alimentação e para cada pessoa, dentro da sociedade hierarquizada, um tipo de alimento específico para sua classe social. Dessa forma, o acesso aos alimentos gera a organização da sociedade e cria sociedades complexas e os avanços tecnológicos e científicos permitiram sustentar populações cada vez mais numerosas.

Concomitantemente a isso, são criadas as diferentes classes sociais e o acesso diferenciado aos alimentos. Tal estratificação social reflete na nutrição, onde pessoas mal nutridas são mais susceptíveis às doenças. Há, assim, o estabelecimento de novos padrões epidemiológicos, como a varíola e a peste negra que acometeram principalmente pessoas menos abastadas.

Os alimentos apresentam uma grande diversidade nutricional: além de água, os alimentos são compostos por carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas, sais minerais e fibras, que são importantes para a nutrição das nossas células. Existem os alimentos considerados “energéticos”, pois liberam energia necessária ao metabolismo, alimentos que são provedores de matéria prima para a produção de novas células, ditos “constitutivos” ou “plásticos”, e os alimentos que auxiliam na regulação do metabolismo, chamados “reguladores”. Assim, a deficiência na ingestão de alimentos, tanto do ponto de vista energético quanto nutricional, pode acarretar problemas de desnutrição, que ocorrem principalmente em países de baixa renda.

Em contrapartida, é observada atualmente a questão da obesidade, um quadro que deriva da ingestão de alimentos de forma desbalanceada, associada com um estilo de vida sedentário e falta de atividades físicas. Esse problema ocorre principalmente em países da América, Europa e Oceania. Dentre os países de primeiro mundo, nos Estados Unidos da América 30 a 40% da população é obesa. Canadá e Austrália também apresentam altos índices de obesidade, entre 20 a 30 % da população. Em alguns países Europeus 10 a 20% da população apresenta problemas de obesidade. E, dentre os países em desenvolvimento, o Brasil é o único que já apresenta problemas de obesidade na população (10 a 20%), assemelhando-se aos índices de países mais ricos.

Na dieta humana, os principais alimentos provêm de animais ou de plantas. No entanto, com maior ou menor frequência, costuma-se incluir alguns alimentos de outros grupos de organismos.

O iogurte e produtos análogos são produzidos a partir do crescimento de bactérias chamadas lactobacilos. Estes microrganismos ocorrem naturalmente no leite, porém o crescimento acima de um dado limite acarreta alterações bioquímicas em sua composição, principalmente ao acúmulo do ácido láctico, proveniente da atividade fermentativa das bactérias.

Outro grupo de organismos bastante utilizado para fins alimentícios é o das algas. Por exemplo, a cianobactéria *Spirulina*, que antigamente era cultivada em lagos e lagoas pelos astecas. Essa alga é usada no preparo de aditivo alimentício, que tem sido proposto para atenuar os problemas de subnutrição de povos de países em desenvolvimento. A *Spirulina* apresenta alto conteúdo protéico, em virtude da sua condição de fixadora de nitrogênio atmosférico.

Várias espécies de algas eucarióticas são usadas por diferentes povos em sua dieta. Em particular no Japão é muito comum o uso de algas como alimento. Entre as Phaeophyta (algas pardas) inclui-se o gênero *Laminaria*, popularmente conhecida pelos japoneses como *kombu*. Outra alga parda muito apreciada é representante do gênero *Undaria*, a *wakame*. Entre as Rhodophyta (algas vermelhas) a mais popular é do gênero *Porphyra*, o *nori*, amplamente empregado no preparo do sushi.

Além disso, complementos alimentares baseados em algas são cada vez mais comuns no comércio de produtos alternativos ou ditos “naturais”. Além do alto conteúdo protéico, as algas são fonte de vitaminas e minerais, sobretudo o iodo e o potássio, importantes para o bom funcionamento do organismo de homens e animais.



Com relação aos fungos, dos quatro grupos em que se dividem, quitridiomycetos, zigomicetos, ascomycetos e basidiomicetos, apenas os dois últimos apresentam representantes comestíveis. Os gêneros de ascomycetos *Morchella* e *Tuber* têm como representantes as morcelas e as trufas, respectivamente.

A classe dos basidiomicetos contém a maioria dos fungos consumidos, sendo que a parte utilizada corresponde ao corpo de frutificação. O cogumelo mais comum no mercado é o *Agaricus bisporus*, popularmente conhecido como *champignon*. Já na culinária oriental é bastante utilizado o *Lentinus edodes* (*shiitake*) e o *Pleurotus ostreatus* (*shimeji*).

Apesar de outros grupos de organismos contribuírem para a nutrição humana e animal, são as plantas que fornecem a maior parte da energia necessária à manutenção da vida. Dentre elas as angiospermas constituem o grupo mais numeroso de plantas, com mais de 250 mil espécies descritas! Destas, apenas 150 espécies são produzidas em larga escala, porém, 80% das calorias que consumimos são provenientes de menos de dez espécies.

As plantas, a partir do processo de fotossíntese, produzem uma série de compostos essenciais para a manutenção e reprodução da espécie. Através dos diversos processos metabólicos envolvidos são formados açúcares, substâncias de reservas (amidos, proteínas e/ou óleos), fibras, resinas e metabólitos secundários importantes na proteção das plantas e nas diversas interações com o meio em que vive.

Além de água, os alimentos são compostos basicamente das seguintes classes de substâncias: carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas, sais minerais e fibras. A energia necessária para o trabalho celular pode ser obtida dos carboidratos, dos lipídeos e das proteínas. Para a construção de novas células os lipídeos, as proteínas, a água e os sais minerais são importantes fontes de matéria prima. Além disso, as proteínas, as vitaminas e os sais minerais também são substâncias reguladoras do metabolismo celular. As fibras, embora não digeridas e absorvidas, são importantes na alimentação humana, pois contribuem para aumentar o bolo alimentar, bem como estimular o peristaltismo do sistema digestório. Grande parte dos alimentos que utilizamos apresenta todas as classes de substâncias descritas acima, porém com predominância de uma ou outra categoria.

Atualmente, estima-se que as necessidades energéticas diárias de uma pessoa adulta estejam ao redor de 2400 kcal. Há uma variedade enorme de alimentos de origem animal e vegetal capaz de satisfazer tal demanda. Entretanto, a combinação de diferentes alimentos é a única possibilidade que existe para garantir o suprimento de todos os nutrientes em quantidade suficiente para o bom desempenho do organismo. Vale lembrar que há oito aminoácidos não sintetizados pelo organismo humano, ditos essenciais, obtidos exclusivamente da dieta. São eles a fenilalanina, a isoleucina, a leucina, a lisina, a metionina, a treonina, o triptofano e a valina. Alimentos que apresentam proteínas com um balanço desses aminoácidos semelhante ao das nossas proteínas são dieteticamente superiores. Em geral considera-se que a proteína ideal é a do ovo de galinha.

As principais representantes de plantas protéicas são: a soja (*Glycine max*), o feijão (*Phaseolus vulgaris*), o amendoim (*Arachis hypogaea*), a lentilha (*Lens culinaris*), a ervilha (*Pisum sativum*), o grão-de-bico (*Cicer arietinum*), a alfafa (*Medicago sativa*) e os trevos (*Trifolium* spp.). São plantas com elevado teor de nitrogênio, enxofre e fósforo em menores proporções. As proteínas são o principal constituinte do protoplasma, mas armazenadas nas sementes.

Estas sementes apresentam os **aminoácidos essenciais** (tabela 1) e devem ser ingeridas preferencialmente associadas a cereais para que sejam adquiridas quantidades suficientes para o pleno aproveitamento. A combinação de um cereal com uma leguminosa resulta numa mistura de proteínas com uma composição média de aminoácidos essenciais muito mais próxima à da proteína padrão (ovo de galinha) que cada uma das proteínas isoladamente. Entre os europeus é comum a associação do trigo com ervilhas, lentilhas ou grão-de-bico. Os orientais combinam arroz com soja. Na América do Sul e Central, fazem-se combinações entre arroz e feijão ou milho e feijão.

Tabela 1: Proporção de aminoácidos essenciais em diferentes grupos de alimentos.



Alimento	Aminoácidos essenciais (mg/g de N)							
	Iso	Leu	Lis	Met	Fen	Ter	Tri	Val
Ovo de galinha	393	551	436	210	358	320	93	428
Carne bovina	301	507	556	169	275	287	70	313
Leite bovino	295	596	487	157	336	278	88	362
Frango	334	460	497	157	250	248	64	318
Peixe	299	480	569	179	245	286	70	382
Milho	230	783	167	120	305	225	44	303
Trigo	204	417	179	94	282	183	68	276
Arroz	238	514	237	145	322	244	78	344
Feijão	262	476	450	66	326	248	63	287
Soja	284	486	399	79	309	241	80	300
Batata	236	377	299	81	251	235	103	292
Mandioca	175	247	259	83	156	165	72	204
Coco	244	419	220	120	283	212	68	339

Os cereais representam os recursos mais extensamente explorados, são eles o arroz (*Oriza sativa*), a aveia (*Avena sativa*), o centeio (*Hordeum vulgare*), a cevada (*Secale cereale*), o milho (*Zea mays*), o sorgo (*Sorghum bicolor*) e o trigo (*Triticum aestivum*). No entanto, os mais importantes em termos de produção mundial são o trigo, o arroz e o milho. Tais alimentos estão relacionados ao fornecimento de energia devido ao alto teor de amido. Outras fontes amiláceas são plantas que apresentam órgãos subterrâneos espessados sob a forma de raízes (mandioca - *Manihot esculenta*, batata-doce - *Ipomoea batatas*), tubérculos (batata - *Solanum tuberosum*, inhame - *Dioscoreaalata*, cará - *D. bulbifera*.) e bulbos (taioba - *Colocasia esculenta*) e também infrutescências (fruta-pão - *Artocarpus altilis*, jaca - *A. heterophyllus*).

Finalmente, as plantas oleaginosas produzem misturas de substâncias chamadas óleos fixos, isso dado que não são voláteis como os óleos essenciais. Os óleos fixos são encontrados principalmente em sementes (de legumes, cereais e palmeiras) e também em alguns frutos (oliva e abacate). Nota-se, portanto, a grande importância como reserva energética para o embrião durante a germinação. Os óleos fixos são misturas de triglicerídeos, isto é, são formados por três resíduos de ácidos graxos que esterificam uma molécula de glicerol (figura 1). Tais substâncias são altamente energéticas, fornecem o dobro de energia por grama quando comparados a carboidratos e proteínas.

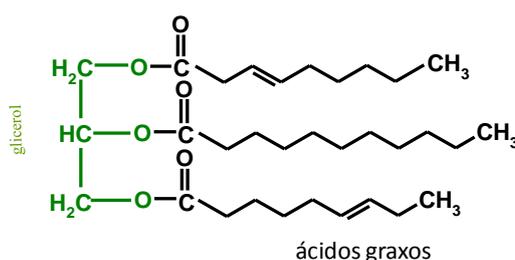


Figura 1: Estrutura do triglicerídeo.

Além da importância nutricional, os óleos são fundamentais para diversas atividades econômicas: na indústria de tintas e vernizes, na produção de xampus e sabões, na produção de lubrificantes e na indústria farmacêutica. A diversidade de aplicação dos óleos, deve-se, sobretudo, às propriedades físicas e químicas, que está atrelada à composição em ácidos graxos.

Uma das propriedades físicas mais importantes dos óleos é o seu ponto de fusão. Os glicerídeos que se apresentam sólidos à temperatura ambiente são comumente designados por gorduras. Já aqueles que se apresentam no estado líquido são ditos óleos, tais englobam a grande maioria dos óleos vegetais. É importante salientar que o ponto de fusão dos óleos é determinado por duas características estruturais dos ácidos graxos: o tamanho da cadeia carbônica (quanto maior a cadeia mais alto o ponto de fusão) e o grau de insaturação (quanto maior o grau de insaturação menor o ponto de fusão). Essas características estruturais dos ácidos graxos também determinam a destinação econômica dos óleos. A indústria de tintas classifica os óleos em três categorias (óleos secantes, semi-secantes e não secantes), de acordo com a



sua eficiência como secantes, ou seja, relacionado ao número de insaturações presentes nas moléculas de ácidos graxos. Dentre os óleos de grande interesse econômico pode-se citar como óleos secantes: o linho (*Linum usitatissimum*) e a soja (*Glycine max*); óleos semi-secantes: milho (*Zea mays*), girassol (*Helianthus annuus*) e gergelim (*Sesamum indicum*); óleos não-secantes: oliva (*Olea europaea*), mamona (*Ricinus communis*) e amendoim (*Arachis hypogaea*). Dentre as gorduras vegetais têm-se o coco (*Cocos nucifera*), o babaçu (*Orbignya speciosa*), o dendê (*Elaeis guineensis*) e a manteiga de cacau (*Theobroma cacao*).

Alimentação e Saúde

A alimentação deve ser moderada, variável e equilibrada, contendo alimentos de todos os grupos (cereais, massas, legumes, hortaliças, frutas, carnes, laticínios e lipídeos). O consumo de alimentos considerando-se, principalmente, evidências de efeitos benéficos para a saúde e o bem-estar, pode estar relacionado aos *fitonutrientes*. Ou seja, nutrientes presentes em alimentos vegetais, porém que não são classificados como nutrientes tradicionais (carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas e sais minerais). Tais *fitonutrientes* são oriundos do metabolismo secundário das plantas e responsáveis por inúmeros benefícios à saúde humana, por exemplo, os varredores de radicais livres (polifenóis, carotenóides, tocoferol e ácido ascórbico), os glicosinolatos presentes nas Brassicaceae (brócolis, couve, repolho) auxiliam na prevenção de tumores, dentre inúmeros outros compostos.

Muitas plantas utilizadas na alimentação também são reconhecidas por terem ação farmacológica, tanto de ordem medicinal quanto tóxica. O chá verde (*Camellia sinensis*), por exemplo, é amplamente consumido pela população mundial como bebida. Alguns estudos atribuem diversos benefícios advindos de seu consumo regular, tal como a prevenção de variadas formas de câncer e de doenças cardiovasculares. Por outro lado, estudos de mesma natureza atestam uma relação inversa, onde o consumo da bebida se correlaciona positivamente com a ocorrência de câncer de esôfago, estômago e intestino.

Já o café, por muitos anos considerado tanto pela ciência quanto pela cultura popular uma bebida de propriedades medicinais inferiores às do chá, atualmente é considerado uma excepcional fonte de ácido clorogênico, um poderoso antioxidante. Da fração oleosa extraída das sementes do café, também são obtidos dois diterpenos, cafestol e caveol, que possuem atividade anticarcinogênica e hepatoprotetora. O consumo destes diterpenos, que ocorre quando o café é preparado sem filtrar (café fervido ou turco), está relacionado, no entanto, com aumento do colesterol sanguíneo de baixa densidade (LDL), que é frequentemente associado às doenças cardíacas.

A partir dos exemplos citados acima, é possível perceber que uma planta pode apresentar ao mesmo tempo usos alimentares, efeitos terapêuticos e tóxicos. Assim sendo, é de extrema importância que as propriedades das plantas utilizadas, seja na alimentação ou para fins medicinais, sejam bem reconhecidas, de forma a diminuir o risco de intoxicações.

Propriedades Farmacológicas das Plantas

Os conhecimentos a cerca da ação das plantas sobre o corpo humano são muito antigos, provavelmente antecedendo o estágio de civilização. Há milênios, a botânica e a medicina eram consideradas uma mesma área do conhecimento, e as informações sobre a atividade farmacológica de uma planta eram um misto de observações e superstições.

Acreditava-se que as plantas tinham sido criadas por Deus para servir ao homem e que elas apresentavam sinais em sua morfologia que indicavam as suas “utilidades”. As sementes de *Cardiospermum halicacabum*, por exemplo, apresentam impressa no tegumento uma figura muito semelhante a um coração, o que levava as pessoas a acreditarem que a planta serviria para tratar males cardíacos. Atualmente, sabe-se que a ação de uma planta está relacionada ao seu perfil químico, ou seja, às substâncias que ela produz.

Durante a idade média, algumas plantas da família Solanaceae, ricas em alcaloides tropânicos, eram conhecidas por sua utilização em rituais de feitiçaria. Esses alcaloides, em altas doses, possuem efeito estimulante e em seguida depressor e estão ligados também a efeitos alucinógenos. O mito das bruxas que voavam em cima de vassouras provém do fato de que as mulheres consideradas feiticeiras durante a idade média utilizavam um unguento preparado a partir destas ervas, com o qual impregnavam o cabo da vassoura. Em seguida colocavam-na entre as pernas e o unguento, em contato com a mucosa vaginal e anal, era rapidamente absorvido pelo organismo causando alucinações e a sensação de voo.

Outro grupo de plantas muito reconhecido pelos seus efeitos farmacológicos é a família Papaveraceae, à qual pertence *Papaver somniferum*, popularmente conhecida como papoula. A evidência mais antiga do cultivo desta planta data



de 5.000 anos e foi deixada pelos Sumérios, que a descreviam como “planta da alegria”. A partir da papoula é extraído o ópio, droga de efeito sedativo que era amplamente utilizada pelos povos antigos, egípcios, gregos e romanos.

A partir da papoula, em 1806, foi isolado o primeiro fármaco de origem vegetal, a morfina, um alcaloide utilizado até hoje graças à sua forte ação anestésica. Da mesma planta são obtidos outros fármacos para controle da dor, como a codeína e a papaverina, este último é um dos constituintes do medicamento Atroveran[®], utilizado para o tratamento de cólicas. A descoberta da morfina pode ser considerada como o fato mais importante do início do século XIX. O pesquisador alemão Friererich Sertüner isolou a partir do ópio uma substância cristalina e insolúvel em água que se mostrou farmacologicamente ativa quando administrada aos animais. A esta substância deu o nome de *morphium* em homenagem a Morpheus, deus grego do sono. Esta descoberta possibilitou a compreensão sobre os mecanismos fisiológicos da dor, e inspirou o desenvolvimento de muitas drogas análogas à morfina, levando a um grande avanço na farmacologia.

A grande explosão acerca do conhecimento da composição química de plantas veio na segunda metade do século XX, devido aos enormes progressos na área da química de produtos naturais. Paralelamente, a farmacologia também apresentava avanços. Com a verificação laboratorial dos efeitos dos fármacos, o conhecimento das plantas medicinais foi consolidado e aceito pela comunidade científica mundial.

Plantas medicinais e princípios ativos

Os princípios ativos são as substâncias responsáveis pela ação terapêutica das plantas medicinais, que pertencem ao grupo conhecido como metabólitos secundários. Estão distribuídos nos diferentes órgãos das plantas, podendo estar presentes em todas as partes, ou restritos a órgãos específicos. São classificados de acordo com a classe de substâncias aos quais pertencem: ácidos fenólicos, alcaloides, flavonoides, glicosídeos cardioativos, terpenoides, entre outras.

Dentre os principais princípios ativos de origem vegetal podemos destacar os alcaloides, substâncias que frequentemente exercem efeitos sobre o sistema nervoso de mamíferos, atuando como estimulantes ou depressores. Um exemplo bastante conhecido é a atropina, um alcaloide tropânico obtido a partir da planta *Atropa belladonna*, conhecido pela sua ação dilatadora das pupilas, mas que também pode ser utilizado em casos agudos de bradicardia (baixa frequência de batimentos cardíacos). A codeína e a morfina, substâncias provenientes da papoula (*Papaver somniferum*, Papaveraceae), são alcaloides opióides utilizados no tratamento da dor. A papaverina, também proveniente da papoula, é o princípio ativo do medicamento Atroveran[®], utilizado no tratamento de cólicas. Outro exemplo de alcaloide tropânico utilizado terapêuticamente é a escopolamina, oriunda de espécies de *Scopolia* (Solanaceae), que faz parte da composição do medicamento Buscopan[®], também utilizado para aliviar cólicas. A vincristina e a vimblastina, alcaloides presentes em *Catharantus roseus* (Apocynaceae), planta nativa e endêmica de Madagascar, são utilizadas em diversos tipos de tratamentos quimioterápicos, especialmente contra leucemia. Outro alcaloide importante é a pilocarpina, oriunda de *Pilocarpus jaborandii* (Rutaceae), utilizada em tratamentos contra o glaucoma e no tratamento da xerostomia (secura da boca), muito recorrente em pacientes que fazem quimioterapia.

Outras classes de metabólitos secundários que desempenham importante papel na produção de fármacos são os glicosídeos cardioativos e os óleos voláteis. Dentre os glicosídeos cardioativos destacam-se a digoxina e a digitoxina, substâncias purificadas a partir da dedaleira (*Digitalis lanata*, Plantaginaceae), utilizada no tratamento de diversos tipos de doenças cardíacas. Dentre os óleos voláteis com propriedades medicinais, a cânfora, substância predominante no óleo volátil de *Cinnamomum camphora* (Lauraceae), possui ação anti-séptica e anti-pruriginosa. O eugenol, principal componente do óleo de *Eugenia caryophyllus* (Myrtaceae), possui efeito antisséptico e levemente anestésico.

Muitos fármacos são semi sintetizados a partir de substâncias de origem natural, dentre as quais o ácido acetilsalicílico é exemplo clássico. Desde 400 a.P. sabe-se que a casca do salgueiro (*Salix alba*, Salicaceae) possui propriedades antipiréticas e analgésicas. O fármaco, ácido salicílico, foi isolado em 1828. Em 1897, o laboratório alemão Bayer conjugou o ácido salicílico com um grupo acetil, criando o ácido acetilsalicílico (AAS), menos tóxico para o organismo. O ácido acetilsalicílico foi o primeiro fármaco sintetizado na história da farmácia.

Outro exemplo é representado pelos trabalhos de Russell E. Marker sobre a síntese de progesterona a partir da diosgenina, saponina isolada de *Dioscorea macrostachya* (Dioscoreaceae). Estes trabalhos foram cruciais para a descoberta da pílula contraceptiva feminina.

Vale lembrar também do Paclitaxel (Taxol[®]), fármaco licenciado recentemente para o tratamento de câncer. A substância ativa, isolada de *Taxus brevifolia* (Taxaceae) é pouco abundante na natureza. No entanto sua síntese é possível a partir da desacetil 10-baccatina III, abundante em *T. baccata*. O Paclitaxel demonstrou atividade antitumoral e já está aprovado para uso clínico para o tratamento de câncer de pulmão, câncer de mama e de ovário, assim como o sarcoma de Kaposi.



Diversos derivados terpênicos de *Artemisia annua* (Asteraceae) têm sido utilizados na síntese de artemisina, um importante sesquiterpeno com propriedades antimaláricas. Esta planta já é utilizada na medicina chinesa desde 200 a.P.

Além de serem utilizadas para a produção de medicamentos, as plantas também fazem parte da medicina popular, e um grande número de pessoas faz uso de chás, tinturas, extratos e cápsulas de origem vegetal, que muitas vezes são comercializados com pouco controle. O apelo para o consumo de produtos de origem natural são cada dia maiores, e muitos pensam que medicamentos a base de plantas (fitoterápicos e fitofármacos) não apresentam riscos à saúde e podem ser utilizados indiscriminadamente.

Mas, da mesma forma que algumas plantas possuem substâncias que podem ser benéficas aos seres humanos e a outros animais, muitas plantas têm potencial tóxico. Inclusive, a mesma planta que possui efeito benéfico pode apresentar toxicidade, dependendo da dosagem ou da maneira que é utilizada.

Plantas tóxicas

Dentre os compostos vegetais potencialmente tóxicos destacam-se os alcaloides pirrolizidínicos, os glicosídeos cianogênicos e alguns óleos voláteis. Atualmente já se conhecem treze famílias de plantas que apresentam elevados índices de alcaloides pirrolizidínicos (AP). Tais compostos são hepatotóxicos, carcinogênicos, teratogênicos, genotóxicos e por vezes pneumotóxicos. Estima-se que 3% das plantas com flores apresentam esses alcaloides, principalmente gêneros de plantas das famílias Asteraceae, Fabaceae e Boraginaceae. Nos anos de 1920s problemas de fígado se disseminaram na África do Sul em decorrência do consumo de pães contaminados com sementes de espécies de *Senecio*. Na ex-USSR, há 60 anos doenças de fígado acometeram a população em função do consumo de pães com *Heliotropium lasiocarpum* (Boraginaceae). Muitos outros casos de intoxicação também foram reportados na Ásia, todos derivados da contaminação de cereais por APs. Além dos alimentos advindos diretamente de plantas, o leite e o mel também podem ser outra fonte de exposição humana aos APs. A contaminação pode ocorrer em gados de leite que se alimentam de plantas com altos teores de APs e produzem leite contaminado. Da mesma forma, a produção do mel pelas abelhas pode ser contaminada por pólen de espécies ricas em APs.

Um exemplo muito conhecido de planta com propriedades medicinais e tóxicas ao mesmo tempo é o confrei (*Symphytum officinale*, Boraginaceae), que na década de 1980 era muito consumido *in natura* ou na forma de chás, por conta de propriedades terapêuticas que lhe eram atribuídas. O confrei tem ação medicinal, graças à presença de alantoína, um composto nitrogenado de comprovada ação cicatrizante. No entanto, a planta contém APs que causam lesões no fígado, podendo levar à doença oclusiva.

Outro exemplo clássico de planta tóxica é a gloriosa, *Gloriosa superba*, planta ornamental largamente utilizada em jardins. Esta espécie apresenta o alcaloide colchicina, que se ingerido inibe a mitose das células, causa vômitos e diarreia, desidratação, hipotensão e perda total de pelos.

Outras plantas ornamentais com alta toxicidade são a espirradeira (*Nerium oleander*) e a comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia picta*). A primeira apresenta glicosídeo cardioativo, oleandrina, que provoca problemas gastrointestinais e distúrbios cardíacos. E a segunda apresenta uma proteína com atividade enzimática, dumbcaína, que provoca a lise das membranas celulares. Esta ruptura promove a liberação de histamina, serotonina e outras aminas que desencadeiam um intenso processo alérgico. A azaleia, *Rhododendron* sp., também tem propriedades tóxicas conferidas pela andromedotoxina, um terpenoide que afeta a fisiologia do coração e da respiração.

Os glicosídeos cianogênicos também são de grande preocupação para a saúde humana, pois causam a asfixia celular pela liberação de cianidreto. A mandioca, *Manihot esculenta*, que apresenta extrema importância econômica, contém linamarina, um glicosídeo cianogênico em suas raízes. Esta substância se ingerida pode causar asfixia celular e morte, assim a perfeita preparação deste alimento é essencial para a eliminação deste composto.

Por fim, a mamona (*Ricinus communis*) cuja propriedade medicinal é bastante conhecida pelo óleo de rícino com efeito purgativo, também é bastante tóxica. Esta planta contém ricina, uma proteína capaz de aglutinar hemácias que pode causar trombozes e embolias, mas não está presente no óleo.

Assim é importante ressaltar a necessidade de estudos fitoquímicos para a elucidação da química das plantas, seu potencial medicinal, nutracêutico e tóxico. Além de discernir entre as formas de obtenção e melhor aproveitamento de cada propriedade.

Referências bibliográficas



De Angelis RC. (2001) Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativas. São Paulo, Atheneu.

Gomiero T; Pimentel D & Paoletti MG. (2011) Is there a need for a more sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences** 30: 6-23.

Martinez ST; Almeida MR & Pinto AC. (2009) Alucinógenos naturais: um voo da Europa medieval ao Brasil. **Química Nova** 32 (9): 2501 – 2507.

Newall CA; Anderson LA & Phillipson JD. (2002) Plantas Medicinais: guia para profissional de saúde. **Premier**.

Piesse J & Thirtle C. (2010) Agricultural R&D, technology and productivity. **Philosophical Transactions of the Royal Society B** 365: 3035-3047.

Pollastri S & Tattini M. (2011) Flavonols: old compounds for old roles. **Annals of Botany** 108: 1225 – 1233.

Riet-Correa F; Medeiros RMT & Schild AL. (2011) A review of poisonous plants that cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. **Journal of Applied Toxicology** 32: 245 – 254.

Yune RA & Calixto JB. (2001) Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal. **Argos**.

Wiedenfeld H & Edgar J. (2011) Toxicity of pirrolizidine alkaloids to humans and ruminants. **Phytochemistry Review** 10: 137 – 151.

Food and Agricultural Organization of the United Nations: www.fao.org/publications

World Food Programme: www.wfp.org/hunger

World Health Organization: www.who.int



Anotações:



A Cegueira Botânica e o Uso de Estratégias para o Ensino de Botânica

Geisly França Katon

Naomi Towata

Luis Carlos Saito

Botânica é uma ciência normalmente considerada pouco interessante pelo público em geral e, especialmente, por estudantes. Para descrever o desinteresse e a desatenção das pessoas em relação aos vegetais, Wandersee & Schussler criaram o termo “cegueira botânica¹”. Ele é adequado para se referir à falta de habilidade das pessoas para perceber as plantas no seu próprio ambiente, o que conduz a uma incapacidade de reconhecer a importância das plantas para a biosfera e para os humanos ou de apreciar a beleza e as características peculiares das plantas. Além disso, pode causar uma visão equivocada das plantas como inferiores aos animais.

Pessoas com a chamada “cegueira botânica” podem apresentar as seguintes características: dificuldade de perceber as plantas no seu cotidiano; enxergar as plantas como apenas cenários para a vida dos animais; incompreensão das necessidades vitais das plantas; ignorar a importância das plantas nas atividades diárias; dificuldade para perceber as diferenças de tempo entre as atividades dos animais e das plantas; não vivenciar experiências com as plantas da sua região; não saber explicar o básico sobre as plantas da sua região; não perceber a importância central das plantas para os ciclos biogeoquímicos; não perceber características únicas das plantas, tais como adaptações, coevolução, cores, dispersão, diversidade, perfumes etc.

Dentre as razões centrais encontradas para o desinteresse e desatenção dos estudantes pelas plantas, podemos destacar a existência de professores de Biologia com afinidade extrema pela Zoologia (zoochauvinismo), bem como o uso frequente de exemplos com animais para explicar conceitos e princípios básicos da Biologia (exemplos zoocêntricos). Aulas de Botânica muito técnicas e pouco motivadoras e a pouca importância dada a experiências de laboratório e de campo com Botânica também podem ser apontadas como estímulos aos desinteresses. Além disso, a maneira como os humanos percebem as plantas está sujeita a restrições dos seus sistemas de processamento de informações visuais e de cognição.

No contexto brasileiro, a preocupação com o ensino de Botânica também é antiga. Em 1937, o pesquisador Rawitscher já atentava para o desafio de tornar a Botânica no ensino secundário uma disciplina menos “enfadonha”. Atualmente, a Botânica permanece como um tema subestimado da Biologia. Sua abordagem nos diversos níveis de ensino é tradicionalmente descontextualizada, excessivamente teórica e descritiva e pouco relacional, o que, obviamente, há de provocar baixo interesse e motivação nos estudantes. Em um estudo sobre a percepção de licenciandos acerca do ensino de Botânica na Educação Básica no Brasil, apurou-se que a maioria dos julgamentos positivos sobre a Botânica fazia referência ao Ensino Fundamental e que a pressão que os exames vestibulares exercem sobre a educação no Ensino Médio contribuiu para tornar as aulas conteudistas e desinteressantes. Neste estudo, a maioria dos estudantes participantes, todos licenciandos em Biologia, alegou ter sua opinião sobre o ensino de Botânica positivamente transformada após conhecerem novas estratégias didáticas. A produção de ferramentas alternativas, como multimídias em geral e jogos, tem se revelado um facilitador interessante no processo de ensino-aprendizagem da Botânica, uma vez que tais ferramentas são capazes de elevar o interesse e a motivação de professores e estudantes sobre as plantas.

Devido ao cenário apresentado e à grande demanda atual pela conservação ambiental, fica evidente a relevância de pesquisas que enfoquem novas estratégias para ensinar botânica, levando a população em geral, incluindo os estudantes de diferentes níveis de ensino, a superar a “cegueira botânica”.

Uma estratégia de ensino é um modo de manipular os recursos disponíveis no ambiente para torná-lo mais favorável ao processo de aprendizagem. Cada estratégia tem um objetivo específico, ou seja, apresentam pré-requisitos, pontos de vista e favorecem conhecimentos não conceituais de forma distintos entre si. A utilização de apenas uma estratégia de ensino pode ser feita para sanar uma dificuldade específica de um estudante, entretanto para um grupo de estudantes e múltiplos assuntos recomenda-se o uso de múltiplas estratégias ao longo do curso.

¹ No original: *plant blindness*



Um excesso de aulas apenas expositivas pode gerar um desgaste no processo de ensino e aprendizagem de Botânica. Uma abordagem descontextualizada, com excesso de teoria, extremamente descritiva e focada em conhecimento conteudista (por exemplo centrado na memorização de nomes complicados) pode levar a perda do entusiasmo dos estudantes, onde o estímulo para a aprendizagem fica cada vez mais diminuto. Observa-se assim a origem de um “ciclo vicioso”, uma vez que os professores reclamam e usam tal falta de interesse observado nos estudantes para justificar sua própria falta de entusiasmo. Por outro lado, as aulas consideradas “pouco entusiasmadas” são apontadas pelos estudantes como fatores de seu próprio desinteresse. Dai a necessidade de quebrar tal ciclo.

Dentre as modalidades didáticas existentes, destacamos as aulas práticas e projetos como formas muito interessantes para propiciar aos estudantes a experiência de vivenciar o método científico. Entre as principais funções das aulas práticas pode-se citar: despertar e manter o interesse dos alunos; envolver os estudantes em investigações científicas; desenvolver a capacidade de resolver problemas; compreender conceitos básicos; e desenvolver habilidades. As aulas práticas são muito importantes também para a aprendizagem do aluno nas aulas de Botânica, pois são uma oportunidade de relacionar os conteúdos teóricos com o seu dia-a-dia e perceber que a matéria aprendida nos livros não está distante do seu cotidiano. O professor pode explorar temas mais relevantes ao cotidiano do aluno. No entanto, vale ressaltar que outros instrumentos também são importantes para a aprendizagem, como jogos, discussões, debates, modelos e as próprias aulas expositivas. Dar ênfase em atividades que explicitem o estudante como integrante da natureza, interagindo com ela, faz com que o aluno perceba sentindo, emocionando-se ao relacionar-se com o meio. A utilização desse tipo de atividade permite o contato com outras formas de conhecimentos não conteudistas, como por exemplo, como proceder em um ambiente de laboratório ou como agir ao lidar com competição, ao escolher e efetivar uma atividade, o professor propõe aos alunos a realização de diversas operações mentais num processo de crescente complexidade do pensamento.

As possibilidades de estratégias de ensino são muito variadas, algumas atividades como leitura de texto e tempestade cerebral promovem uma atividade mais individual, exercícios de debate e estudos de caso estimulam cooperação, jogos ajudam nos processos de resolução de problemas, mapas de conceito trabalham a capacidade de síntese. A escolha de uma estratégia não deve ser leviana, ela depende de um planejamento a longo prazo levando em consideração os alunos e o projeto político-pedagógico da instituição

De acordo com as Orientações Curriculares para o Ensino Médio, “o jogo oferece o estímulo e o ambiente propícios que favorecem o desenvolvimento espontâneo e criativo dos alunos e permite ao professor ampliar seu conhecimento de técnicas ativas de ensino, desenvolver capacidades pessoais e profissionais para estimular nos alunos a capacidade de comunicação e expressão, mostrando-lhes uma nova maneira, lúdica, prazerosa e participativa de relacionar-se com o conteúdo escolar, levando a uma maior apropriação dos conhecimentos envolvidos”. O uso de atividades lúdicas, como as brincadeiras, os brinquedos e os jogos, são reconhecidos pela sociedade como meio de fornecer ao indivíduo um ambiente agradável, motivador, prazeroso, planejado e enriquecido, que possibilita a aprendizagem de várias habilidades. Outra importante vantagem, no uso de atividades lúdicas, é a tendência em motivar o aluno a participar espontaneamente na aula. Acrescenta-se a isso, o auxílio do caráter lúdico no desenvolvimento da cooperação, da socialização e das relações afetivas e, a possibilidade de utilizar jogos didáticos, de modo a auxiliar os alunos na construção do conhecimento em qualquer área, pois o jogo alia aspectos lúdicos aos cognitivos e enquanto joga, o aluno desenvolve a iniciativa, a imaginação, o raciocínio, a memória, a atenção, a curiosidade e o interesse, concentrando-se por longo tempo em uma atividade. No entanto, ao utilizar os jogos como estratégias didáticas, os professores devem estabelecer bem os objetivos educativos desta atividade, pois a atividade “jogo” pode ser interpretada como “brincadeira” pelos alunos.

Os ciclos de vida dos vegetais podem ser considerados um dos pontos mais desafiadores da Botânica, especialmente, quando se trata de sua transposição didática. Tanto professores como alunos costumam manifestar grandes dificuldades em perceber que os ciclos dos mais variados exemplares de plantas seguem todos um padrão geral de funcionamento que, uma vez compreendido, torna fluente o entendimento das peculiaridades que cada grupo vegetal apresenta. Podemos destacar três aspectos que se revelam como complicadores do tema em questão: muitas das estruturas estudadas são microscópicas e, portanto, de difícil domínio pelos estudantes; muitos dos conceitos genéticos requisitados são abstratos; e, por último, frequentemente, os estudantes não estão familiarizados com a terminologia específica utilizada. Como forma de aproximação entre o tema e os estudantes, podemos lançar mão de um recurso tecnológico que ilustre o tema de modo a torná-lo menos abstrato para os estudantes uma vez que este será facilmente visualizado utilizando-se de um programa de animação computacional para representar alguns ciclos de vida dos vegetais.

O BOTED (Grupo de Pesquisa Botânica na Educação) tem como objetivo, dentre outros, contribuir para ampliar os conhecimentos sobre ensino-aprendizagem de Botânica. O desenvolvimento de estratégias didáticas é um de seus focos.



Apresentamos a seguir alguns materiais didáticos disponíveis na internet e deixamos o convite para uma visita ao site www.botanicaonline.com.br para conhecer mais sobre o trabalho do grupo:

Material 1. Jogo - Que caule é este?

Material elaborado por membros do BOTED para o Ensino Básico. Aborda a morfologia dos tipos básicos de caule por meio de um jogo de cartas colaborativo de correlação entre os tipos de caule e seus exemplos, a descrição e o desenho esquemático. Disponível em www.botanicaonline.com.br, Materiais didáticos.

Material 2. Aprendendo sobre Algas: Jogo Algazarra

Material elaborado por membros do BOTED para o Ensino Básico. O jogo foi desenvolvido para computadores e aborda a diversidade de algas e suas características de maneira interativa disponibilizando gabarito para conferir as respostas. Disponível em www.botanicaonline.com.br, Materiais didáticos.

Material 3. Animação sobre fotossíntese

Material elaborado por membros do BOTED para a formação continuada de professores. Aborda o processo de fotossíntese em detalhes e pode ser utilizado para dar uma visão geral do processo também para alunos do ensino médio. <http://www.youtube.com/watch?v=mUwUHgPpiF0>

Referências bibliográficas

- Anastasiou, Lea G. C. (2006) Estratégias de ensinagem., *in*: Anastasiou, L. G. C., Alves, L. P. Processos de ensinagem na Universidade. 6ª ed. Joinville (SC): Univille, p.68-100
- Brasil. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Básica. (2006) Orientações curriculares para o ensino médio: ciências da natureza, matemática e suas tecnologias. Brasília: MEC/SEB.
- Fortuna, T. R. (2003) Jogo em aula. **Revista do professor**, Porto Alegre, 19: 75 pp. 15-19.
- Huang, Yueh-Min; Lin, Yen-Ting; Cheng, Shu-Chen.(2010). Effectiveness of a mobile plant learning system in a science curriculum in taiwanese elementary education. **Computers & Education** 54:47-58.
- Kinoshita, L. S. *et al.* (2006)A Botânica no Ensino Básico: relatos de uma experiência transformadora. São Carlos: Rima.
- Krasilchik, M. (2008)Prática de Ensino de Biologia. São Paulo: Edusp.
- Sanders, M. et al. (1997) First-year university students' problems in understanding basic concepts of plant reproduction.**South African Journal of Botany** 63:6.
- Silva, L.M.; Cavallet, V.J.; Aalquini, Y. (2006)O professor, o aluno e o conteúdo no ensino de botânica. **Revista do Centro de Educação**31: 1.
- Silva, P.G. P. (2008) O ensino da botânica no nível fundamental: um enfoque nos procedimentos metodológicos (Tese), UNESP, Bauru, 146 p.
- Spiro, M.D.; Knisely, K.I. (2008) Alternation of generations and experimental design: a guided-inquiry lab exploring the nature of the her1 developmental mutant *Ceratopteris richardii*(C-fern). **CBE—Life Sciences Education**, 7.
- Towata, N.; Ursi, S.; Santos, D.Y. A. C. (2010) Análise da percepção de licenciandos sobre o ensino de botânica na educação básica. **Revista da SBenBio**3:1063-1612.



Wandersee, J. H.; Schussler, E. E. (1999) Preventing plant blindness. **American Biology Teacher**61(2):84-86.

Wandersee, J. H.; Schussler, E. E. (2001) Towards a theory of plant blindness. **Plant Science Bulletin**47(1):2-9.



Anotações:



Transplastômica: Transformando Plantas em Biorreatores

Bruno Silvestre Lira

1.0 Transformação de plantas

A transformação de plantas compreende basicamente duas etapas: a etapa de transformação propriamente dita, ou seja, a introdução e integração de material genético novo na célula; e a etapa de regeneração das células transformadas. Atualmente, dois métodos de transformação são amplamente utilizados: biolística e mediado por *Agrobacterium*.

Independente do modo de transformação, o primeiro passo é a construção de um plasmídeo contendo o cassete de expressão (Fig. 1), este possui: a sequência codificante de um elemento de seleção (geralmente um gene que confere resistência a algum antibiótico) e a do(s) gene(s) de interesse; para sua expressão, a estas sequências são adicionados os elementos regulatórios (promotor, terminador e UTR's para transcrição e tradução em um sistema eucariótico) necessários.

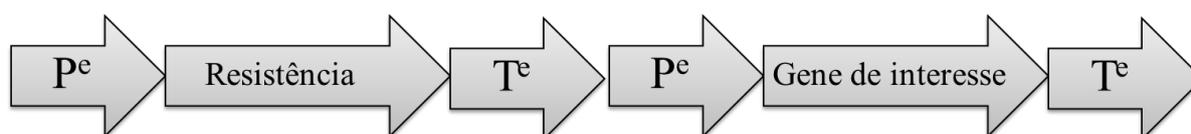


Figura 1: Representação de um cassete de expressão. P^e : Promotor para sistema eucariótico; Resistência : Gene que confere resistência ao agente de seleção; T^e : Terminador para sistema eucariótico.

O método da biolística consiste no disparo de partículas de ouro ou tungstênio superficialmente carregadas com a construção contra explantes de tecido utilizando um aparato de alta pressão. Uma vez dentro da célula, a molécula de DNA é eluída da partícula e, utilizando a própria maquinaria celular de correção de lesões no DNA, esta pode ser inserida em uma região aleatória em algum dos cromossomos (Fig. 2). O tecido é mantido em meio seletivo para que unicamente as células que tenham recebido o gene de resistência consigam se dividir dando origem a gemas para a regeneração de um organismo transgênico, o qual terá todas as suas células transformadas. Para induzir a regeneração, os explantes bombardeados são mantidos na presença de hormônios para desencadear a morfogênese.

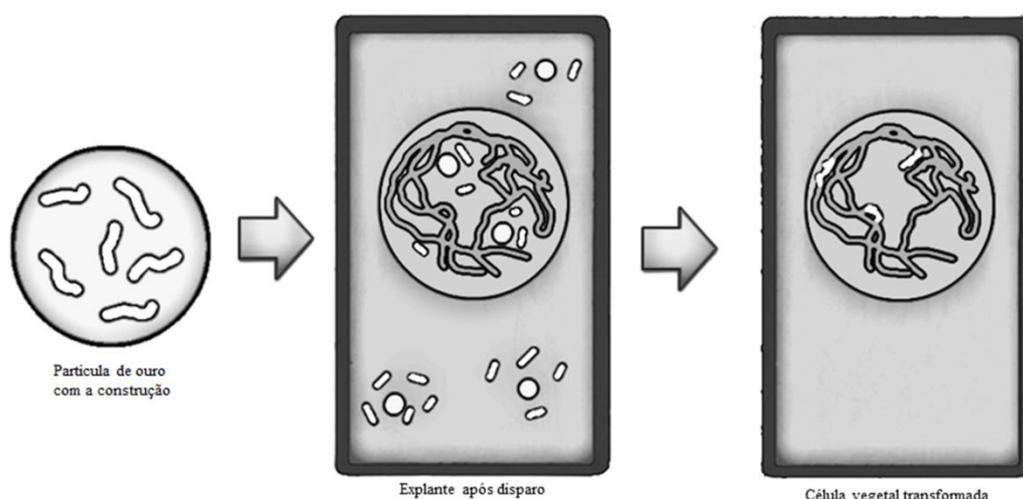


Figura 2: Representação da transformação por biolística. A construção (branca) é ligada em uma partícula de ouro ou tungstênio. Utilizando um equipamento de disparo com alta pressão, as partículas são disparadas contra o explante, entrando na célula, causando a eluição das moléculas da construção. As moléculas ativam a maquinaria de correção do DNA, integrando uma ou mais cópias da construção em posições aleatórias do DNA genômico.

A técnica mediada por *Agrobacterium* utiliza o processo natural de infecção desta bactéria. Este processo caracterizado em *A. tumefaciens* causa um desenvolvimento anormal na região infectada formando galhas. A formação destas estruturas é estimulada por genes presentes no plasmídeo Ti da bactéria, mais precisamente na região chamada T-DNA. Fora da região T, o plasmídeo contém um grupo genes chamado *vir* (virulência) cujas proteínas atuam na



transferência do T-DNA para o tecido infectado. Este fragmento é levado até o núcleo onde é incorporado aleatoriamente no genoma das células infectadas (**Fig. 3**). Quando este mecanismo natural é utilizado para transformar plantas com genes de interesse plasmídeo Ti é modificado, substituindo os genes do T-DNA pelo cassete de expressão (**Fig. 1**). A transformação ocorre com a incubação do explante com bactérias *Agrobacterium* transformadas, sendo posteriormente feita a seleção de células transformadas de forma similar à da técnica de biolística.

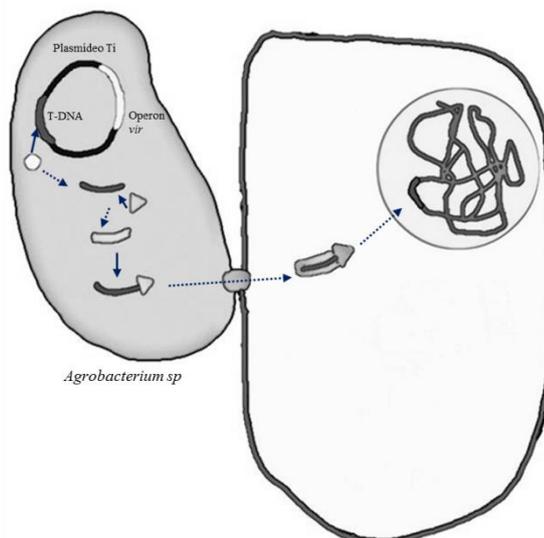


Figura 3: Representação da transformação mediada por *Agrobacterium*. O plasmídeo Ti contém o operon *vir* (branco) que codifica para as proteínas representadas, envolvidas no processo de transferência do T-DNA. Uma das proteínas forma uma espécie de canal entre a bactéria e a célula vegetal por onde o T-DNA associado a outras proteínas além de proteínas que atuarão dentro da célula vegetal para levar o T-DNA até o núcleo, onde a detecção de um fragmento de DNA ativar a maquinaria de reparo da célula, a qual integrará randomicamente o T-DNA no genoma nuclear.

Enquanto a técnica mediada por *Agrobacterium* possui menor chance de inserção de múltiplas cópias, suas maiores limitações são a necessidade de uma construção mais complexa (contendo os genes *vir*), a eliminação das bactérias do meio de cultura antes da etapa de seleção de células transformadas e a restrição a espécies vegetais que *Agrobacterium* é capaz de infectar. Um problema de ambas as técnicas é a aleatoriedade na inserção no genoma, podendo ocorrer em regiões de expressão baixa ou nula ou até mesmo no meio de um gene. Adicionalmente, a expressão do transgene no núcleo celular pode eventualmente desencadear o seu silenciamento, deixando assim de ser expresso.

Uma vez que estas técnicas transformam o DNA genômico e a planta regenerada tem todas as suas células contendo o transgene, os gametas formados por estas plantas também o terão, tornando possível a dispersão do transgene para outras espécies através do pólen. Assim, a contenção do transgene gera diversas discussões sobre biossegurança, aumentando as barreiras para a liberação do plantio.

2.0 Do núcleo para plastídios: Um novo alvo para transformação

A ideia de manipular o genoma plastidial surgiu na década de 80, quando foi demonstrado ser possível introduzir um cloroplasto isolado em um protoplasto. Em 1988, Boytone colaboradores reportaram a primeira transformação de cloroplasto, uma linhagem de *Chlamydomonas reinhardtii* mutante para o gene *atpB* (gene que codifica para uma subunidade da ATP sintase). Os autores conseguiram incorporar no genoma plastidial o gene selvagem restaurando assim a mutação. A partir desse momento, diversos trabalhos conseguiram transformar cloroplastos com sucesso utilizando células em cultura e folhas de tabaco assim como, calos e embriões somáticos de trigo.

A transplastômica segue os mesmos princípios que as técnicas descritas anteriormente para transformação nuclear: integrar o cassete de expressão no genoma plastidial; selecionar os plastídios transformados; e regenerar uma planta com todas as células contendo o transgene. Em linhas gerais, a transformação plastidial não possui grandes diferenças técnicas em relação à nuclear, mas devido a que os cloroplastos se dividem independentemente da célula que os contém o processo de seleção tem algumas particularidades.

3.0 Plastídios



Plastídios (do grego *plastikos*= moldado/plástico) são organelas citoplasmáticas com uma grande diversidade de formas e funções, sendo o cloroplasto um dos mais conhecidos. São envoltos por de duas a quatro membranas, havendo duas nas plantas terrestres. No interior, os plastídios possuem um sistema interno de membranas de complexidade variável imerso no estroma, sua matriz.

3.1 Origem dos plastídios

Acredita-se que ao longo da evolução dos organismos fotossintetizantes ocorreram diversos eventos de endossimbiose, originando os plastídios com número variável de membranas. O evento chamado de endossimbiose primária ocorreu com a incorporação de uma cianobactéria fotossintetizante por um protista eucariótico heterotrófico, mas, ao invés de ocorrer sua digestão, esta foi reduzida a uma organela envolta por duas membranas (a membrana da cianobactéria e a membrana do vacúolo digestivo do protista, correspondendo, respectivamente, à membrana interna e interna do plastídio). Eventos de deleção e transferência de genes para o núcleo celular resultaram na redução do genoma da cianobactéria, permanecendo somente alguns genes no pequeno genoma plastidial (**Fig. 4**). Esta nova organela foi então passada verticalmente para as gerações subsequentes.

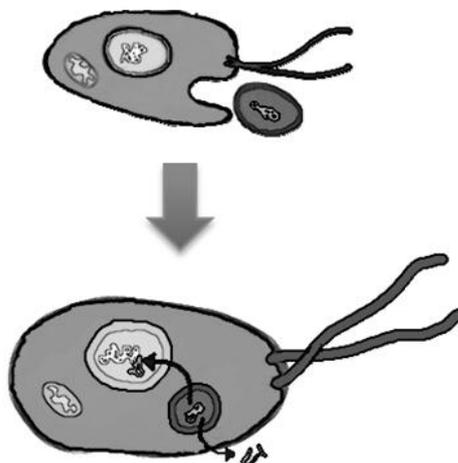


Figura 4: Origem dos plastídios. Acima está o evento de incorporação da cianobactéria pelo protista heterotrófico. Abaixo estão representados os eventos de transferência gênica para o núcleo e a perda de genes.

Em alguns cromoalveolados é possível encontrar cloroplastos envoltos por três ou quatro membranas, como é o caso das diatomáceas. A teoria dos cromoalveolados propõe outros dois eventos de endossimbiose para explicar a origem desta organela. Na endossimbiose secundária, uma alga vermelha (descendente da linhagem da endossimbiose primária) foi assimilada por um protista eucariótico heterotrófico, sendo reduzida a um cloroplasto com três membranas (as duas do cloroplasto da alga vermelha, com a adição de uma mais externa oriunda do vacúolo digestivo). A endossimbiose terciária ocorreu com a assimilação de um descendente da linhagem da endossimbiose secundária, sendo reduzido a um cloroplasto com quatro membranas. Esta teoria também pressupõe diversos eventos de perda do cloroplasto em linhagens de cromoalveolados.

3.2 Estrutura dos plastídios

Os plastídios são envoltos por ao menos duas membranas ricas em galactolipídeos, mas pobres em fosfolipídeos: a externa possui poros não específicos que permitem a livre passagem de água, íons e metabólitos de até 10kDa; enquanto a interna somente é permeável a pequenas moléculas sem carga e a moléculas de ácido monocarboxílicos de baixo peso

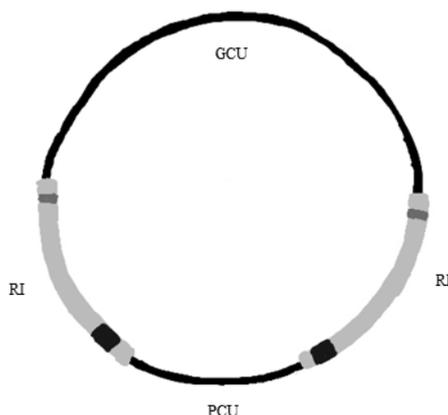


Figura 5: Estrutura do genoma plastidial. Em cinza estão representadas as regiões invertidas com os genes representados com diferentes cores mostrando que ambas são idênticas, mas com orientação inversa. PCU: Região pequena de cópia única; GCU: Região grande de cópia única; RI: Região invertida.

molecular (outras substâncias necessitam o auxílio de transportadores para atravessá-la). Entre estas duas membranas há o espaço intermembranar, um compartimento aquoso cuja fisiologia e composição permanecem desconhecidas pelas dificuldades em isolar os componentes desta região.

Internamente, no estroma, estão os ribossomos, o genoma plastidial e o sistema interno de membranas. A estrutura das membranas internas é variável, desde pouco desenvolvidas até um alto grau de complexidade como é o caso dos cloroplastos, estes apresentam uma densa rede de tilacóides com regiões nas quais há um empilhamento dessa rede tubular, formando as *grana*.

A multiplicação dos plastídios ocorre através de um processo de fissão binária, não sendo sincrônico com a divisão celular, o que explica o elevado número de plastídios em uma célula. No geral, este processo ocorre nos proplastídios, etioplasto e cloroplastos jovens, sendo mais raro em cloroplastos maduros.

3.3 Genoma plastidial

O genoma plastidial está organizado em uma molécula circular DNA dupla fita, tendo uma estrutura similar a de um cromossomo procariótico. Nas plantas terrestres, o genoma varia entre 120 e 180 kpb (pb = pares de base), contendo cerca de 120 genes. Em cada plastídio, há várias cópias desta molécula.

O sequenciamento do genoma plastidial de diversas espécies revelou algumas características conservadas destas moléculas. Existe uma região grande de cópia única (GCU), uma pequena de cópia única (PCU) e duas regiões com cerca de 25 kpb idênticas em orientação invertida (RI). Interessantemente, embora ainda não esteja claro, há um mecanismo de correção que garante a identidade das RI's (**Fig. 5**).

A maior parte dos genes dos plastídios codifica para proteínas diretamente envolvidas na fotossíntese, RNA transportador, RNA ribossomal e para algumas das proteínas ribossomais. Adicionalmente existem regiões que são conservadas em diversas espécies, mas cuja função ainda não é conhecida, denominadas *ycf* (*hypothetical chloroplast open reading frame* = fase de leitura aberta hipotética do cloroplasto).

A hereditariedade do genoma é uniparental e através dos proplastídios. Na maioria das Angiospermas é unicamente materna, os de origem paterna ou são excluídos durante a fecundação ou são degradados na gametogênese ou fecundação. Em contraste, nas Gimnospermas, o genoma paterno é geralmente herdado na geração subsequente.

3.4 Tipos de plastídios



Os diversos tipos de plastídios (**Fig. 6**) originam-se a partir dos **proplastídios**. Estes estão presentes nas regiões meristemáticas, sendo caracterizados pelo estroma uniformemente denso, ausência de pigmentos e o sistema de membranas internas pouco desenvolvido. Os **amiloplastos** têm função de reserva, não possuem pigmentos e há uma grande quantidade de grânulos de amido no seu estroma, sendo comuns em órgãos de reserva. Outro tipo não pigmentado são os **leucoplastos**, que possuem um estroma denso com um sistema de membranas internas simples e, geralmente associados ao retículo endoplasmático, têm a função de síntese de monoterpenos, sendo comum em glândulas.

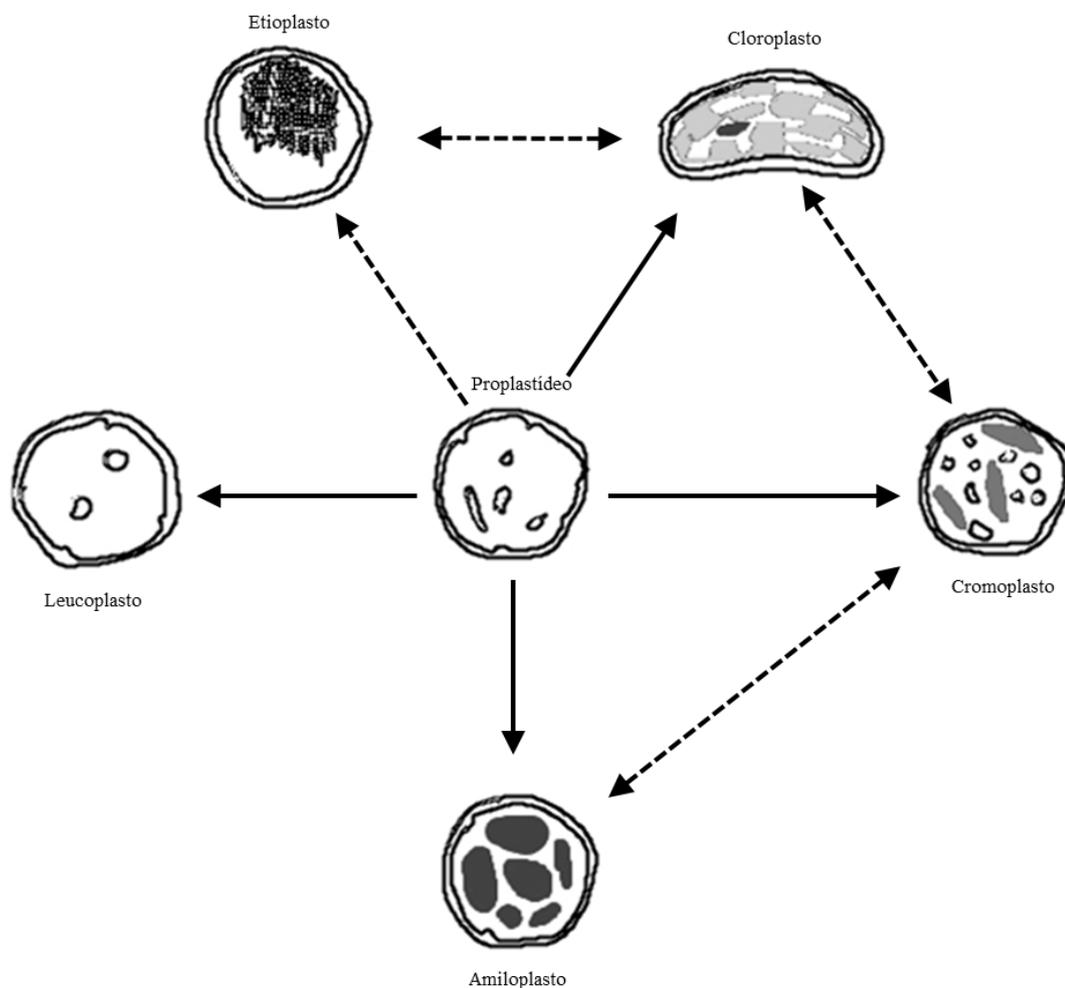


Figura 6: Diagrama simplificado do desenvolvimento dos plastídios. As setas inteiras representam processos normais de desenvolvimento, enquanto que as tracejadas indicam processos que somente ocorrem em certas condições ambientais/fisiológicas específicas. Em cinza escuro, nos cloroplastos e amiloplastos estão representados grânulos de amido; e no cromoplastos, vesículas com pigmentos.

Os **cloroplastos** (**Fig. 7**) são os mais conhecidos, possuem um estroma denso, com uma complexa estrutura de membranas internas, podendo conter alguns grânulos de amido. São caracterizados pela coloração verde dada pela clorofila e são responsáveis pela captura da energia luminosa, havendo um número variável por célula (*e.g.* 120 cloroplastos aproximadamente em uma célula madura do mesofilo de *Arabidopsis thaliana*). Quando a luminosidade é insuficiente, o desenvolvimento dos cloroplastos é alterado, a clorofila não é formada, acumulando na forma de seu precursor incolor, o protoclorofilide, e o complexo de membranas internas assume uma estrutura semicristalina chamada de corpo prolamelar, este plastídio é chamado de **etioplasto**.

Outro tipo pigmentado são os **cromoplastos**, responsáveis pela coloração de diversos órgãos como frutos, raízes e flores. Estes plastídios acumulam quantidades variadas de carotenóides e xantofilas e, além da diversa composição de pigmentos, a estrutura de membranas internas e a forma do cromoplasto também são variáveis. Originam-se a partir de



proplastídios ou de cloroplastos maduros (como ocorre durante o amadurecimento de alguns frutos). Através de certo estímulo luminoso, é possível que o cromoplasto se diferencie em cloroplasto.

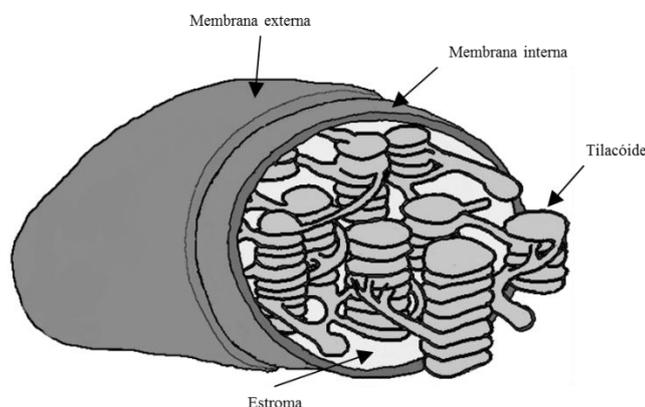


Figura 7: Estrutura do cloroplasto

4.0 Conhecendo a transplastômica

O início da década de 1980 foi marcado por vários avanços na manipulação genética de plantas, importantes publicações demonstraram a possibilidade de se transformar protoplastos ou transformar células utilizando *Agrobacterium*; outro importante avanço ocorreu em 1987 com o desenvolvimento do aparato para biolística. Em um momento no qual a manipulação do DNA genômico estava sendo o foco de diversas pesquisas com a otimização de variadas técnicas, qual a razão para tentar transformar plastídios?

Um dos maiores atrativos da transformação do genoma plastidial é o elevado número de cópias deste genoma, pois em uma célula há um número variável de plastídios, que por sua vez, possui diversas cópias do genoma. Isto resulta em um número superior de cópias de genes plastidiais em relação a genes nucleares em uma célula, sendo estimado que, em certos tecidos, haja milhares de cópias dos genes plastidiais. Adicionalmente, quando o produto do gene de interesse atua no próprio plastídios e elimina o gasto metabólico do transporte do mRNA do núcleo para o citoplasma, e da proteína do citoplasma para o plastídios.

Pelo descrito anteriormente podemos mencionar algumas vantagens que a transformação dos plastídios oferece a respeito da transformação nuclear:

- Compartimentalização do transgene - sendo de especial importância para expressão de proteínas que seriam tóxicas no citoplasma;
- Contenção do transgene – dada a herança uniparental materna na maioria das Angiospermas, os riscos de contaminação de outras plantas pelo pólen é muito reduzido;
- Ausência de silenciamento – os plastídios não têm uma maquinaria de defesa como a que atua no núcleo, a qual leva ao silenciamento de um gene caso este tenha uma expressão muito elevada. Já foi documentado o acúmulo de 169 vezes mais transcritos após uma transformação plastidial em relação a uma nuclear.
- A localização do transgene não é aleatória como no caso da transformação nuclear; ponto que será descrito abaixo.

4.1 Construindo o vetor

Pela origem dos plastídios, o sistema de expressão gênica é semelhante ao procariótico de forma que todos os elementos regulatórios (promotor, terminador e UTR) devem ser tais que possam ser reconhecidos pela maquinaria transcricional e traducional do plastídios. Geralmente são utilizadas as sequências regulatórias de genes plastidiais com elevada expressão como subunidades da RUBISCO, componentes do fotossistema, ou RNA ribossomal. Exceto por esta adaptação ao sistema de expressão procariótico, não há nenhuma outra mudança no cassete de expressão.



A grande vantagem da técnica surge pelo modo como ocorre a integração no genoma plastidial. No caso da transformação nuclear, esta ocorre pela ação do mecanismo de reparo do DNA, integrando aleatoriamente o fragmento no genoma. Isto possibilita três possíveis cenários caso haja integração:

- Integração em uma região genômica de heterocromatina – nesta região não haverá expressão do cassete, ficando funcionalmente similar a uma célula não transformada.
- Integração em região de eucromatina – haverá expressão, mas esta é variável em cada linhagem regenerada uma vez que a regulação da expressão se dá tanto por fatores genéticos (os elementos presentes no cassete de expressão) quanto por epigenéticos (variáveis de acordo com a posição de integração).
- Integração interrompendo um gene – a integração no meio de um gene pode ter diversos efeitos sobre a planta, dependendo do gene pode não ter grande efeito, ou afetar seu desenvolvimento podendo até ser letal.

Na transplastômica a integração do cassete de expressão ao genoma plastidial é realizada pela maquinaria de recombinação desta organela de forma sitio específica. O cassete de expressão deve estar flanqueado por regiões homólogas às RIs plastidiais, de forma que o fragmento de interesse seja integrado numa posição determinada e conhecida no genoma através de uma recombinação homóloga (Fig. 8).

Como consequência, a expressão dos genes contidos no cassete de expressão será similar em todos os indivíduos transformados, uma vez que o transgene estará na mesma posição genômica sob o controle dos mesmos elementos regulatórios.

Em resumo, o vetor é muito semelhante a um de biolística, além da alteração dos elementos regulatórios, a única diferença é a existência de sequências homólogas flanqueando o cassete de expressão, as quais definirão o ponto de inserção no genoma plastidial.

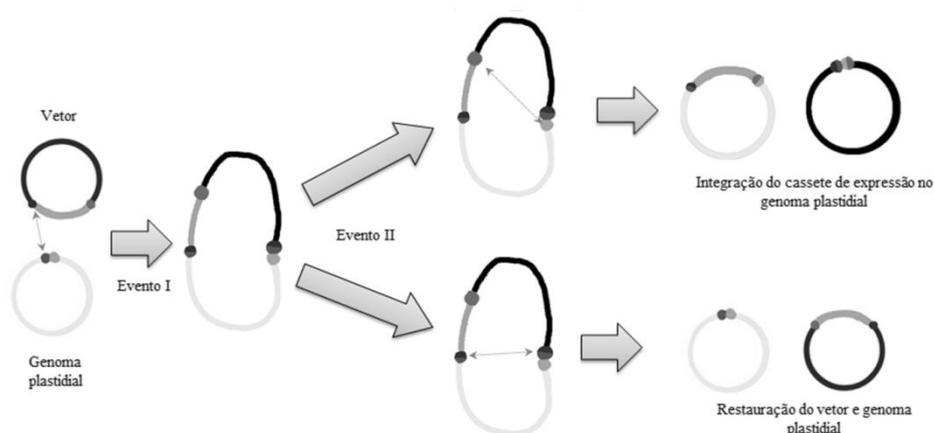


Figura 8: Recombinação homóloga do vetor com o genoma plastidial. A recombinação ocorre nos sítios apontados pela seta. Após o primeiro evento de recombinação (sítio escuro), é formada uma estrutura que co-integra o vetor inteiro com o genoma plastidial. Essa é uma estrutura instável e com a ocorrência do segundo evento de recombinação dois resultados são possíveis: Recombinação no sítio claro, efetivamente integrando o cassete de expressão no genoma plastidial; ou outra recombinação no sítio escuro, retornando à condição inicial, sem integrar o cassete no genoma.

4.2 Transformando os plastídios

A transformação pode ser feita de duas maneiras:

- Transformação de uma célula intacta por biolística - de modo similar à transformação nuclear: o plasmídeo com a construção é ligado em partículas de ouro, as quais são disparadas contra os explantes, algumas atingindo os plastídios.
- Transformação de protoplastos com polietilenoglicol – Os protoplastos são incubados com uma solução de íons e polietilenoglicol, o que causa uma desestabilização nas membranas, aumentando sua permeabilidade. A aplicação de uma corrente elétrica estimula a migração do plasmídeo, permitindo sua entrada na célula e, eventualmente, no plastídio.



4.3 Seleção dos transformados

A próxima etapa consiste em selecionar as células transformadas.

No caso da transformação nuclear, a seleção ocorre com a manutenção do tecido bombardeado ou transformado com *Agrobacterium* em meio seletivo, o qual só permitirá o desenvolvimento das células que contenham o gene de seleção que darão origem às plantas transformadas. A seleção é um processo relativamente rápido uma vez que o alvo da transformação é o genoma nuclear, o qual possui uma única cópia na célula. Assim, as células transformadas capazes de expressar o marcador seletivo se desenvolverão, enquanto que as incapazes de expressá-lo (seja por não possuírem o gene ou por ter sido integrado em uma região sem expressão) não conseguirão se desenvolver eficientemente na presença deste agente.

A seleção na transplastômica é mais complexa, as diversas moléculas do genoma plastidial dentro dos vários plastídios presentes na célula devem ser selecionadas de modo que todas as moléculas na célula tenham o transgene. Este é o estado no qual há maior rendimento nas linhagens transformadas, mas requer diversas rodadas de seleção, ou seja, várias transferências do material para novos meios seletivos. Em alguns casos, o aumento progressivo da concentração do agente seletivo em cada novo meio pode ser usado de modo a intensificar o processo.

Ao longo do processo de seleção, encontram-se células em dois estágios (**Fig.9**):

- Heteroplastômica– Célula com uma população mista de moléculas de genoma plastidial (transformadas e não transformadas);
- Homoplastômica– Célula com população de moléculas do genoma plastidial homogênea (todas as moléculas estão transformadas ou não transformadas)
-

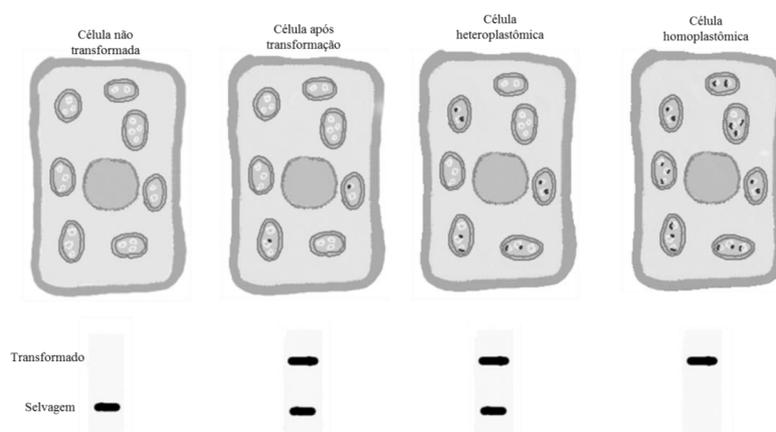


Figura 9: Transformação e seleção dos plastídios transformados. Após a transformação há poucas moléculas transformadas (moléculas com trecho escuro) em alguns dos plastídios da célula, as diversas rodadas de seleção estimulam o aumento no número destas, idealmente, passando do estado heteroplastômico, no qual a população de plastídios é mista (transformados e selvagens) para o homoplastômico, no qual todos estão transformados. Os *southern blots* esquematizados representam situações com o genoma plastidial selvagem, ou seja, não transformado (banda menor), e com o genoma transformado (banda maior). A diferença do tamanho das bandas é resultado da integração do cassette de expressão.

4.4 Regeneração dos transformados

Com a seleção finalizada, o próximo passo é regenerar uma planta a partir das células homoplastômicas.

O material transformado passa a ser mantido em meio com hormônios que induzem a organogênese, formando gemas (**Fig. 10**). As gemas são posteriormente transferidas para meio de enraizamento e, após a formação da raiz, as plantas são transferidas para um vaso com substrato. Em um primeiro momento é feita uma aclimatização dos indivíduos ainda em condições de temperatura, luminosidade e umidade controladas para a adaptação do sistema radicular; finalmente, os indivíduos podem ser transferidos para uma casa de vegetação onde serão mantidos para fenotipagem e para obtenção de gerações subsequentes.

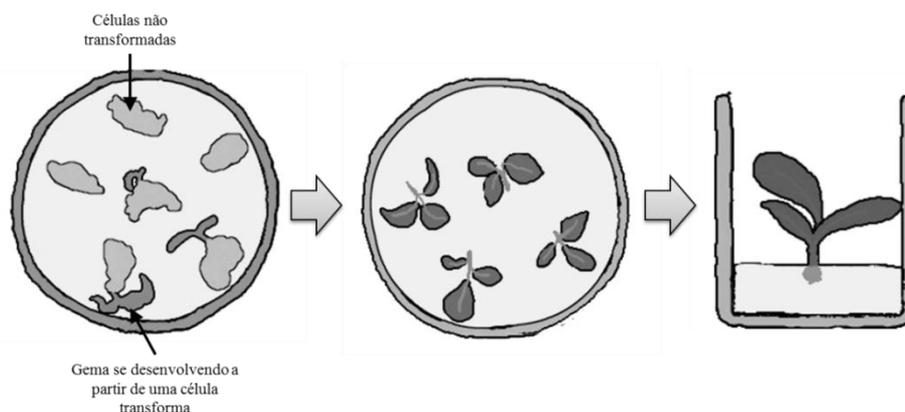


Figura 10: Regeneração das linhagens transformadas. Somente as células transformadas são capazes de se desenvolver na presença do agente de seleção, formando gemas. Após certo ponto no desenvolvimento, é possível transferir estas linhagens para outra placa com meio de crescimento até atingirem o estágio no qual podem ser transferidas para recipientes individuais.

4.5 Dificuldades técnicas: Nenhuma técnica é perfeita

Há algumas dificuldades técnicas que acabam sendo grandes obstáculos para a aplicação da técnica em um número maior de espécies. Algumas delas são:

- Construção de um vetor com região homóloga ao genoma: contrapondo a vantagem de uma inserção sítio dirigida, a construção de um vetor com regiões homólogas ao genoma implica no conhecimento de ao menos parte do genoma plastidial. Isto é ainda uma grande limitação já que são relativamente poucas as espécies para as quais o genoma plastidial foi sequenciado. O uso de sequências de recombinação de espécies heterólogas filogeneticamente próximas, baixa consideravelmente a eficiência de integração.
- Retenção da proteína no plastídio: enquanto que a retenção de proteínas citotóxicas é uma grande vantagem da técnica, não se conhecem vias de exportação de proteínas do cloroplasto para o citosol, impossibilitando a manipulação de vias metabólicas extra-plastidiais.
- Transformando outros plastídios que não o cloroplasto: o cloroplasto é o plastídio cujo conhecimento sobre expressão gênica e fisiologia é maior. Para os outros tipos de plastídios, este conhecimento é limitado, tornando difícil a escolha dos elementos regulatórios que permitiriam uma maior expressão nestes outros tipos.
- Transformando com biolística: o cloroplasto é um plastídio relativamente grande se comparado a um proplastídio por exemplo. Uma complicação para a transformação dos plastídios de menor tamanho é que o bombardeamento pode causar um dano irreparável a sua estrutura, levado a sua desintegração.
- Transformando com polietilenoglicol: a obtenção de protoplastos assim como a sua transformação são processos complexos que só estão otimizados para algumas espécies vegetais.
- Obtenção da homoplasma: poucas moléculas transformadas podem já ser suficiente para garantir a resistência necessária ao agente seletivo, o que pode levar um longo tempo até a obtenção da homoplasma.
- Regeneração: um dos principais obstáculos para qualquer técnica de transformação, os protocolos de regeneração continuam limitados a um número restrito de espécies, tornando somente estas passíveis de transformação.

4.6 A técnica realmente vale a pena?

No fim, as vantagens conseguem compensar as dificuldades?

Um ponto que deve ser ressaltado é que a maioria das dificuldades é na etapa de construção do vetor. Havendo um vetor funcional para uma dada espécie, as outras etapas oferecem dificuldades equivalentes às encontradas na transformação nuclear e futuras transformações nesta espécie só exigirão a manipulação do gene de interesse.

Como o sistema de expressão plastidial apresenta várias semelhanças com o bacteriano, é possível inserir diversos genes na forma de um operon e manipular toda uma via metabólica que ocorra no plastídio. Esta semelhança com o sistema bacteriano pode levantar questões sobre o estado conformacional das proteínas expressas. No entanto, diversos exemplos têm constatado que as proteínas alcançam a conformação funcional, até mesmo com a correta formação de pontes dissulfeto, acredita-se que isto ocorra pela ação de chaperonas e enzimas capazes de modificar proteínas presentes nos plastídios.



Enquanto que a expressão de um transgene nuclear atinge cerca de 3% proteínas solúveis totais (PST) da célula, já foi observado em uma transformação plastidial, um acúmulo de GFP de até 40% PST, sem impactar no desenvolvimento da planta. Somente quando se atingiu cerca de 70% PST o desenvolvimento da planta foi comprometido. Este maior acúmulo é explicado tanto por ser possível haver mais transcritos como por haver um menor número de vias de degradação de proteínas no estroma.

A compartimentalização do produto também oferece grandes vantagens por evitar possíveis efeitos citotóxicos. Isto possibilita a expressão de proteínas de uso terapêutico como é o caso de antígenos ou fármacos, ou de biomateriais com a expressão de proteína que formem ou permitam a formação de monômeros de polímeros.

4.7 A técnica hoje e suas perspectivas

Em relação às plantas terrestres, o tabaco, a primeira a ser transformada, é a planta mais utilizada principalmente nos estudos iniciais com um gene de interesse. Outras espécies de maior interesse comercial como por exemplo, tomate, cenoura, soja, algodão, alface, petúnia, milho, berinjela, e couve, já tiveram transformações efetivas.

Diversos caracteres já foram manipulados nessas plantas, como resistência a insetos e a doenças; e tolerância a herbicidas, déficit hídrico, salinidade e a baixas temperaturas. Mas esta técnica não se restringe a manipulação de caracteres de importância agrônoma. Diversos estudos já tiveram como foco a expressão de proteínas para outros fins, como por exemplo:

- Biomateriais
 - Polímero derivado da elastina – Monômeros capazes de formar uma proteína bioelástica ao polimerizarem-se. Foi expresso em tabaco, obteve acúmulo do transcrito de 100 vezes se comparado a uma transformação nuclear para o mesmo gene.
 - Corismato piruvato liase (CPL) – É uma enzima de *E. coli* que catalisa a conversão de corismato para piruvato e ácido p-hidroxibenzoico (pHBA), este ácido é o principal monômero de todos os polímeros de cristal líquido termotrópico. Corismato ocorre no cloroplasto como um intermediário da via do chiquimato e, na maioria das plantas, sua conversão para pHBA requer 10 reações enzimáticas pela ausência da CPL. A transformação plastidial não causou nenhum efeito pleiotrópico nos indivíduos transformados exceto pelo acúmulo de pHBA. Em comparação com um transgene nuclear, os transplastômicos (com CPL correspondendo a cerca de 30% PST) apresentaram em folha um aumento de 50 vezes no acúmulo de pHBA, embora haja um aumento da atividade enzimática de 240 vezes. Esta diferença entre o acúmulo de pHBA e atividade foi atribuída ao corismato que se torna um fator limitante para esta reação.
- Antígenos:
 - Toxina B da cólera – Nos indivíduos transplastômicos, cerca de 30% PST correspondia à subunidade da toxina B, sendo capazes de formar o oligômero funcional como mesmo potencial antigênico que as subunidades purificadas de *Vibrio cholerae*.
 - Anthrax – Cerca de 18% PST era o antígeno protetor. Este é uma das proteínas expressas por *Bacillus anthracis* e é utilizada em vacinas. A expressão em larga escala em plantas seria um grande avanço na área uma vez que a obtenção desta proteína por filtração de *B. anthracis* não é capaz de eliminar a contaminação por proteínas capazes de desencadear graves efeitos colaterais.
- Proteínas terapêuticas:
 - Soro albumina humana – Construções com rendimento de 11% PST já foram obtidas com a proteína funcional, sendo uma concentração 500 vezes maior do que a obtida pelas técnicas convencionais.
 - α -Interferon humano – Esta proteína possui diversos usos terapêuticos como no tratamento de tumores e na inibição da replicação viral e da proliferação celular. A expressão em tabaco após transformação nuclear obteve um baixo rendimento (0,000017% PST) enquanto que o transgênico plastidial obteve níveis expressivos da proteína (cerca de 19% PST), tendo ação similar ao produto comercializado atualmente.
 - Fator de crescimento semelhante à insulina 1 – Fator utilizado em tratamentos para mediar o crescimento muscular e de outros tecidos, estudos recentes sugerem um efeito positivo sobre diabetes. A expressão em *E. coli* não é eficiente uma vez que a forma madura não é obtida pela incapacidade das bactérias em estabelecer as pontes dissulfeto. A expressão no cloroplasto alcançou níveis de 32% PST, com estrutura e funcionamento similares a proteína nativa.



Uma vantagem de se utilizar esta técnica de transformação para a expressão de proteínas de uso terapêutico é, além do alto rendimento, que o tecido da planta pode ser pulverizado e encapsulado para a administração oral. Reduzindo os elevados custos e a perda de material decorrentes dos processos de purificação, armazenamento a frio e transporte.

Estes foram somente alguns exemplos das várias abordagens possíveis através da transformação plastidial. As perspectivas são que, com o aumento do conhecimento do genoma plastidial e de protocolos de regeneração, esta metodologia possa ser aplicada a um maior número de espécies e de objetivos (como produção de biocombustíveis, fitoremediação de solo e água, e manipulação da capacidade fotossintética das plantas).

Embora neste capítulo o foco tenha sido a integração de genes dentro do genoma plastidial com fins biotecnológicos, também é possível estudar a fisiologia dos plastídios. Se os sítios de recombinação flanquearem um gene, este será removido do genoma quando ocorrer a recombinação, criando uma planta knockout caso a homoplasma seja alcançada. Isto possibilita ampliar o entendimento sobre o papel de certos genes na biologia dos plastídios, como por exemplo, para o estudo da função das *ycf*'s.

4.8 Estudo de caso

Para finalizar, será abordado um exemplo para demonstrar a capacidade da técnica de expressar em larga escala um agente terapêutico funcional.

Em 03/01/2013, foi publicada uma patente nomeada *Administration of Plant Expressed Oral Tolerance Agents* (Administração oral de agentes de tolerância expressos em plantas). A patente refere-se à administração do fator de coagulação IX (F.IX), o qual atua na homeostase do sangue, tendo um importante papel na cascata de coagulação sanguínea. Sua mutação causa hemofilia B, cuja principal terapia é a reposição do fator por injeções intravenosas. Este tratamento é dificultado pela resposta de anticorpos que neutralizam a proteína terapêutica (neste distúrbio, de 9 a 23% dos casos graves apresentam complicações no tratamento pela resposta imunológica), além de predispor o paciente a desenvolver uma resposta alérgica ou anafilática.

As plantas de tabaco transformadas acumularam cerca de 4% PST (proteínas solúveis totais) como F.IX. As análises por eletroforese em gel de acrilamida e por um teste de afinidade com receptor demonstraram que a proteína atingia sua conformação ideal, sendo capaz de pentamerizar, que é a forma capaz de interagir com o receptor.

Camundongos com hemofilia B foram submetidos a um tratamento profilático por dois meses com administração oral de folhas das plantas transformadas pulverizadas em nitrogênio líquido antes de se iniciar o tratamento convencional para este distúrbio. Os camundongos do grupo controle foram tratados com folhas de plantas selvagens e após oito semanas recebendo o fator de forma intravenosa, 75-80% não sobreviveram devido a severas reações alérgicas; já o grupo tratado, mais de 90% sobreviveram após 12 semanas de tratamento, sem apresentar sinais de reações alérgicas ou anafiláticas, e respondendo ao tratamento de forma similar ao grupo controle.

Conclui-se que a administração oral do tecido pulverizado possui ao menos um efeito profilático para terapias de reposição, evitando o desenvolvimento da resposta imune que pode inativar o tratamento e colocar a saúde do paciente em risco.

A expressão no plastídio torna a célula uma biocápsula, o que protege a proteína da ação de enzimas e do ácido estomacal, evitando sua degradação prematura, viabilizando a administração oral. Além disso, a maior expressão nos tecidos vegetais com custos reduzidos possibilita uma produção em maior escala e uma maior exploração dos possíveis efeitos terapêuticos da administração oral da proteína.

Uma vez que os resultados apresentados foram obtidos com plantas de tabaco, espécie que não pode ser consumida, os autores estão trabalhando na expressão do mesmo sistema em folhas de alface visando a continuidade dos estudos e uma possível aplicação clínica.

4.9 Uma breve revisão

A transplastômica surge no final de uma década de importantes avanços no campo da transformação de plantas, tendo como alvo as diversas moléculas do genoma plastidial que há dentro de uma célula. Através de uma recombinação homóloga entre o vetor e o genoma plastidial, há a inserção sítio dirigida do cassete de expressão no genoma plastidial.



Uma vez transformada, a célula é mantida em meio seletivo de modo a selecionar as moléculas do genoma plastidial transformadas até que todas contenham o transgene, assim, a planta regenerada terá todos os plastídios com todas as moléculas de seu genoma transformadas.

A técnica oferece uma série de vantagens como elevada expressão, compartimentalização do transgene e baixo risco de propagação via pólen, possibilitando diversos usos como manipulação de vias metabólicas plastidiais e expressão de proteínas de uso medicinal ou como biopolímeros.

Referências bibliográficas

Bally J; Nadai M; Vitel M; Rolland A; Dumain R; Dubald M. (2009). Plant physiological adaptations to the massive foreign protein synthesis occurring in recombinant chloroplasts. **Plant physiology** 150(3): 1474–81.

Belzile FJ. (2002). Transgenic, transplastomic and other genetically modified plants: a Canadian perspective. **Biochimie** 84(11): 1111–8.

Bock R. (2001). Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. **Journal of molecular biology** 312(3): 425–38.

Buchanan BB; Gruissem W; Jones RL. (2002). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. John Wiley & Sons.

Clarke JL; Daniell H. (2011). Plastid biotechnology for crop production: present status and future perspectives. **Plant molecular biology** 76(3-5): 211–20.

Daniell H. (2007). Transgene containment by maternal inheritance: effective or elusive? **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 104(17): 6879–80.

Daniell H; Kumar S; Dufourmantel N. (2005). Breakthrough in chloroplast genetic engineering of agronomically important crops. **Trends in biotechnology** 23(5): 238–45.

Devine AL; Daniell H. (2005). Chloroplast genetic engineering for enhanced agronomic traits and expression of proteins for medical/industrial applications. **Plastids Annual Plant Reviews** 13: 283-316.

Maliga P. (2002). Engineering the plastid genome of higher plants. **Current opinion in plant biology** 5(2): 164–72.

Maliga P. (2004). Plastid transformation in higher plants. **Annual review of plant biology** 55: 289–313.

Verma D; Daniell H. (2007). Chloroplast vector systems for biotechnology applications. **Plant physiology** 145(4): 1129–43.

Verma D; Samson NP; Koya V; Daniell H. (2008). A protocol for expression of foreign genes in chloroplasts. **Nature protocols** 3(4): 739–58.

Wani, SH; Haider N; Kumar H; Singh NB.(2010). Plant plastid engineering. **Current genomics** 11(7): 500–12.



Glossário

•Cassete de expressão – Fragmento de DNA contendo um promotor e um terminador flanqueando a região codificante de cada um dos genes que deve ser expresso no organismo transformado.

•*Chlamydomonas reinhardtii* – Alga verde unicelular que possui somente um cloroplasto que ocupa cerca de 60% do volume celular.

•Cromossomo procariótico – Geralmente, procariotos possuem um único cromossomo circular com uma única origem de replicação, organizado em uma estrutura chamada de nucleóide (região de forma irregular na célula contendo o material genético e proteínas a ele associadas).

•Diatomáceas – Pertencem aos cromalveolados, são organismos unicelulares com cloroplastos envoltos por quatro membranas. O grupo é altamente diverso com amplo registro fóssil por seu envoltório de sílica e são importantes produtores primários (responsáveis por até 45% da produtividade em alguns oceanos).

•Efeito pleitrópico – Os múltiplos efeitos desencadeados por um gene.

•Embrião somático – Tecido obtido a partir da dediferenciação de células somáticas. Possui capacidade de se desenvolver em uma planta inteira, de forma similar a de um embrião propriamente dito.

•Estado conformacional das proteínas – Refere-se à estrutura secundária e terciária das proteínas, ou seja, a interação entre os aminoácidos que permitem a formação das ligações que mantêm a estrutura tridimensional ideal para o desempenho de suas funções.

•Eucromatina – Região do genoma eucariótico com baixo grau de compactação da cromatina, permitindo o acesso de proteínas e, conseqüentemente, a expressão gênica.

•Explante – Célula, tecido ou órgão de uma planta que é utilizado para iniciar uma cultura *in vitro*.

•Fase de leitura aberta – Sequência de trinças de nucleotídeos entre um códon de início de tradução até o códon de terminação.

•Fatores epigenéticos – Fatores que afetam a expressão gênica, não são determinados pela sequência de nucleotídeos, mas por modificações na molécula de DNA ou histonas (e.g. metilação, fosforilação, acetilação).

•Fatores genéticos – Fatores que afetam a expressão gênica, determinados pela sequência de pares de bases (e.g. promotores, terminadores e outros elementos regulatórios).

•Fissão binária – Processo de reprodução assexuada comum em organismos unicelulares e algumas organelas, no qual, após a metabolização do necessário para a divisão, inicia-se um processo de invaginação da membrana até a completa fissão das duas células ou organelas filhas.

•Galha – Estrutura formada na planta quando há um desenvolvimento anormal do tecido.

•Gene *knockout* – Um gene é nomeado assim quando sua expressão é totalmente inativada.

•GFP (*Green Fluorescent Protein* – Proteína Fluorescente Verde) – Proteína que emite uma fluorescência verde quando excitada por luz UV, sendo amplamente utilizada como um marcador em diversas técnicas como a de transformação.

•Heterocromatina – Região do genoma eucariótico que apresenta alto grau de compactação da cromatina, tornando inativo todos os genes nela contidos.

•Meio seletivo – Meio de cultura contendo um agente seletivo (e.g. antibióticos), assim chamado por selecionar o que possui resistência contra esse agente uma vez que somente estes conseguirão se desenvolver neste meio.

•Monoterpenos – São uma classe de terpenos, um metabólito secundário. É uma classe diversa, presente em óleos e resinas sendo responsáveis por odores, atividade antimicrobiana e aclimação a certas temperaturas.



•Operon – Grupo de genes cuja expressão é controlada por um único promotor e pelas proteínas capazes de interagir com ele.

•Origem de replicação – É uma região na molécula de DNA com sequências às quais as proteínas envolvidas com o início da replicação se ligam, assim, é o ponto a partir do qual a replicação do DNA se inicia.

•Plasmídeo – Pequena molécula circular de DNA presente em procariotos que é capaz de se replicar independentemente do DNA cromossômico.

•Plasmídeo Ti (*Tumor inducing* = indutor de tumor) – Plasmídeo presente em *Agrobacterium* que possui um fragmento de DNA que é incorporado ao genoma da planta hospedeira que codifica para proteínas que formam a galha e sintetizam o composto utilizado no metabolismo da bactéria. O plasmídeo também contém os genes necessários para a transferência deste fragmento de DNA.

•Promotor – Curta sequência a qual a RNA polimerase se liga, determinando assim o ponto de início da transcrição.

• Proteína nativa – Forma de uma proteína na qual ela se encontra na conformação ideal para desempenhar corretamente suas funções.

•Protoplasto – Célula vegetal cuja parede celular foi removida.

•Recombinação homóloga – Rearranjo genético que envolve a troca de sequência de DNA entre suas moléculas que possuem regiões idênticas. Este rearranjo envolve a introdução de uma quebra nas fitas e sua migração formando dois pontos onde as moléculas ficam entrelaçadas, a resolução destas estruturas libera as moléculas, podendo resultar na recombinação.

•Regiões homólogas – Neste caso, usado no sentido de trechos do DNA com alta, se não total, semelhança na sequência de nucleotídeos.

• Região meristemática – Região com células indiferenciadas e intensa atividade de divisão celular, localizando-se nos pontos onde pode haver crescimento na planta como no ápice da parte aérea e da raiz.

•Sequência codificante – Sequência de DNA cujo transcrito será idêntico ao mRNA maduro, não possuindo sequências não codificantes (íntrons) que necessitem ser removidas antes da tradução.

• *Southern blot* – É uma técnica para análise de sequências de DNA. O DNA da célula é extraído, tanto nuclear quanto o de organelas, e submetido à eletroforese em gel de agarose. As moléculas são transferidas para uma membrana e esta é exposta a uma sonda complementar a sequência de interesse. Para a transplastômica, a sonda é para um gene do genoma plastidial e uma diferença no tamanho da banda que indica uma alteração no tamanho do genoma plastidial como consequência da inserção do transgene.

•T-DNA (*Transfer DNA* = DNA de transferência) – Fragmento do plasmídeo Ti que codifica para proteínas que induzem a síntese de auxina e citocinina (hormônios que induzem a formação de galhas) e opina (metabólito necessário para a bactéria).

•Terminador – Curta sequência que promove a dissociação da RNA polimerase e o fim da transcrição.

•UTR (*Untranslated region* – Região não traduzida) – Há nas extremidades 5' e 3' do mRNA. Não fazem parte da sequência codificante (*i.e.* não estão presentes na proteína), estando envolvidas com a montagem e dissociação da maquinaria de tradução da célula, podendo ainda ter outras funções na regulação da tradução.



Anotações:



Biologia Sintética

Edgar Andrés Ochoa C.

A área de biologia molecular está evoluindo para um novo paradigma tecnológico em que o objetivo final é desenhar novas funções ou manipular e melhorar as funções já conhecidas de microorganismos, plantas e células em geral. A história recente da biologia molecular mostra como o campo tem se desenvolvido rapidamente, desde a descoberta da estrutura do DNA em 1953 até o sequenciamento do genoma humano em 2001. Em 50 anos a biologia molecular passou da descoberta da estrutura molecular do DNA para a leitura, montagem e organização de 2,91 bilhões de bases. Mais recentemente, em 2010, a capacidade de escrever código genético em grande escala foi mostrada pelo grupo de Craig Venter, ao conseguirem escrever/sintetizar e montar código de DNA já existente (1,08 milhões de pares de bases) e transplantá-lo para outra bactéria. Este experimento valida a idéia de que um genoma sintético pode fazer funcionar a maquinaria celular.

A expansão da tecnologia de sequenciamento e síntese de DNA tornou-se possível devido à redução de custos. Em 2000, o custo de síntese era de US\$25 e de sequenciamento US\$0,25 por base. Em 2010, estes custos caíram para US\$0,35 para a síntese e US\$0,0000317 para o sequenciamento, o que difundiu a utilização dessas tecnologias. Mesmo com a capacidade tecnológica para ler e compilar uma grande quantidade de DNA, a escala de projetos ainda é pequena e a maioria dos biólogos sintéticos não trabalha com mais de dez genes por vez. Assim, há uma oportunidade única para a expansão da tecnologia de design de circuitos gênicos.

A biologia sintética usa a engenharia de vários genes para a construção de circuitos de DNA que podem ser programados para controlar o comportamento celular. Este campo emergente reúne cientistas de diferentes áreas como biologia, física, química e engenharia que querem entender a vida e construir novas funções biológicas.

Estratégias clássicas de engenharia como padronização, dissociação, e abstração terão que levar em conta as características e a complexidade de dispositivos biológicos. Uma analogia útil para conceituar a engenharia de dispositivos biológicos é mostrar os sistemas vivos como componentes com varias camadas. Na parte basal estão DNA, RNA, proteínas e metabólitos (incluindo lipídios e carboidratos, aminoácidos e nucleotídeos), análogos à camada física de transistores, capacitores e resistores usados na engenharia da computação. A próxima camada é composta pelos dispositivos, análogos às reações bioquímicas que regulam o fluxo de informações e manipulam processos físicos, o equivalente das portas lógicas eletrônicas que realizam cálculos em um computador. Na camada de módulo, o biólogo sintético utiliza uma biblioteca diversificada de dispositivos biológicos para montar complexas vias que funcionam como circuitos integrados, podendo gerar via metabólica inteiras.

Há uma necessidade crescente na biologia sintética para a criação de peças padrão que podem ser usadas como blocos de construção e montadas de maneira confiável. Assim como a compreensão da estrutura mínima, combinação de genes, ou informações que são necessárias para criar uma função específica. Algumas comunidades já começaram a construção de bases de dados de funções biológicas de livre acesso, que irão permitir a transferência mais rápida de tecnologia e amplificarão os potenciais benefícios de projetos desenvolvidos por esta área. Por exemplo, a Fundação Biobricks criou um banco de dados de peças biológicas standardizadas que podem ser usado por qualquer pessoa. Esta base, chamada de Registry of Standard BiologicalParts, é uma coleção de peças genéticas iniciada em 2003 no Instituto de Tecnologia de Massachusetts (MIT) e contém mais de 3400 peças. Isso permite que a comunidade científica crie parcerias e sinergias entre pessoas ou organizações. Dentre os utilizadores destas peças genéticas estão incluídos laboratórios acadêmicos, cientistas estabelecidos e as equipes de estudantes que participam de iGEM (The International Genetically Engineered Machine Competition), que acontece anualmente no MIT.

Outro caso de uma ferramenta de livre acesso de sucesso é a plataforma chamada Foldit que permite que qualquer pessoa ao redor do mundo participe de um jogo de descoberta de dobramento de proteínas. Esta plataforma recentemente conseguiu desvendar a estrutura da M-PMV PR (Protease do retrovírus Mason-Pfizer de macaco), que é importante na maturação viral e proliferação, conhecida também por ser um dos focos do desenvolvimento de medicamentos anti-retrovirais. Os pesquisadores haviam tentado, sem sucesso por mais de uma década, usar a técnica de estrutura por substituição molecular (MR) usando modelos derivados de homodímeros e estrutura por RMN (ressonância magnética nuclear) do monômero da proteína.

Entre as abordagens mais populares usadas na biologia sintética estão: a computação em organismos biológicos, a evolução dirigida e a geração de aptâmeros. A computação biológica usa diferentes moléculas disponíveis como são DNA,



RNA ou proteína para realizar cálculos e processamento de dados. Como parte da computação é necessário um input (entrada de informação), um processamento desta informação e um output (saída de informação). Existem diferentes graus de complexidade que podem ser abordados nesta área, a computação pode ser feita simplesmente com moléculas como no caso de um gene repórter que dá resposta na presença de um metabólito, ou uma via metabólica que gera um produto na presença de um substrato. Nos dois casos o input é o metabólito, o processamento é feito pela maquinaria celular (transcrição e tradução do gene repórter/ várias reações metabólicas acopladas) e o output é o gene repórter ou o produto da via metabólica. Uma das funções interessantes para ser recriadas na computação biológica são as portas lógicas. Assim como as portas lógicas construídas com transistores usados nos computadores, estas permitem implementar computações mais complexas. Por exemplo, permitiria acoplar um sistema de output (gene repórter) a dois inputs dentro da célula (presença de metabólito 1 AND presença de inibidor 1), ou poderia ajudar na criação de circuitos responsivos para mais de um input (presença de metabólito 1 OR presença de metabólito 2).

Por outro lado, a evolução dirigida é usada para modificar sistemas (vias metabólicas) e moléculas já conhecidas, ou partir de bibliotecas de moléculas e otimizar suas funções catalíticas, no caso das enzimas. Esta técnica pode ser usada em células (in vivo evolution) ou em moléculas (in vitro evolution). Uma dos métodos mais famosos para realizar in vitro evolution é a técnica de exonshuffling, na qual moléculas de DNA que codificam para proteínas com a mesma função, mas filogeneticamente distantes, são clivadas em várias partes e posteriormente reconstruídas usando a técnica de PCR. Esta reconstrução produz sequências de DNA resultantes de combinações de diferentes espécies, permitindo a geração de novas moléculas que não seriam possíveis na evolução natural. Esta biblioteca de sequências quiméricas é colocada em bactérias e enfrentada a diferentes pressões bióticas ou abióticas, o que permite a triagem da biblioteca para encontrar a função desejada.

Finalmente, a técnica de seleção de aptâmeros (SELEX) permite gerar bibliotecas de nucleotídeos aleatórios e selecionar estes nucleotídeos segundo sua afinidade de ligação por um substrato, usando etapas iterativas de seleção in vitro. Estes aptâmeros são moléculas de RNA ou peptídeos codificados por estas moléculas com a capacidade de ligação a uma molécula alvo como, por exemplo, outro peptídeo. Podem também ser usadas como sensores, já que têm a capacidade de se ligar em outras moléculas, ou sendo usados como riboswitches.

A biologia sintética traz um enorme potencial de mercado, sendo que já existem vários casos de grandes investimentos sendo feitos em diversas aplicações em potencial. A AmyrisBiotechnologies, na Califórnia, está fazendo biocombustíveis e é avaliada em mais de US\$1 bilhão. SyntheticGenomics, também na Califórnia, tem uma parceria de US\$300 milhões com a ExxonMobil para usar microorganismos projetados para tornar a água potável, gerar combustíveis e produzir vacinas. CodonDevices, em Massachusetts, fornece genes sintéticos para empresas que desenvolvem aplicações da biologia sintética. GingkoBioWorks, em Massachusetts, concentra-se em engenharia de microorganismos. No Brasil, a Amyris está desenvolvendo uma plataforma de biologia sintética industrial para fornecer combustíveis e produtos químicos a partir de matérias-primas alternativas ao petróleo, sendo que o foco inicial está na cana-de-açúcar. A biologia sintética como mercado em crescimento apresenta pontos-chave que precisam ser abordados a fim de desenvolver novas tecnologias.

Referências bibliográficas

Vinson V. (2011) The Allure of Synthetic Biology. *Science* 333:2011-11.

Watson JD; Crick FHC. (1953) Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 171(4356): 737-38.

Venter JC; Adams MD; Myers EW; Li PW; Mural RJ; Sutton GG et al. (2001) The sequence of the human genome. *Science* 291(5507): 1304-51.

Gibson DG; Glass JI; Lartigue C; Noskov VN; Chuang R-Y; Algire Ma et al. (2010). Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329(5987): 52-56.

Baker M. (2011) The next step for the synthetic genome. *Nature* 473:403-408.

Khatib F; DiMaio F; Cooper S; Kazmierczyk M; Gilski M; Krzywdka S et al. (2011). Crystal structure of a monomeric retroviral protease solved by protein folding game players. *Nature Structural & Molecular Biology*: 8-10.



Andrianantoandro E; Basu S; Karig DK; Weiss R. (2006) Synthetic biology: new engineering rules for an emerging discipline. **Molecular Systems Biology**: 1-14.

Registry of Standard Biological Parts. http://partsregistry.org/Main_Page

Biobricks Foundation. <http://biobricks.org/>

Stemmer C. (1994) DNA shuffling by random fragmentation and. *Genetics* 91: 10747-10751.



Anotações: