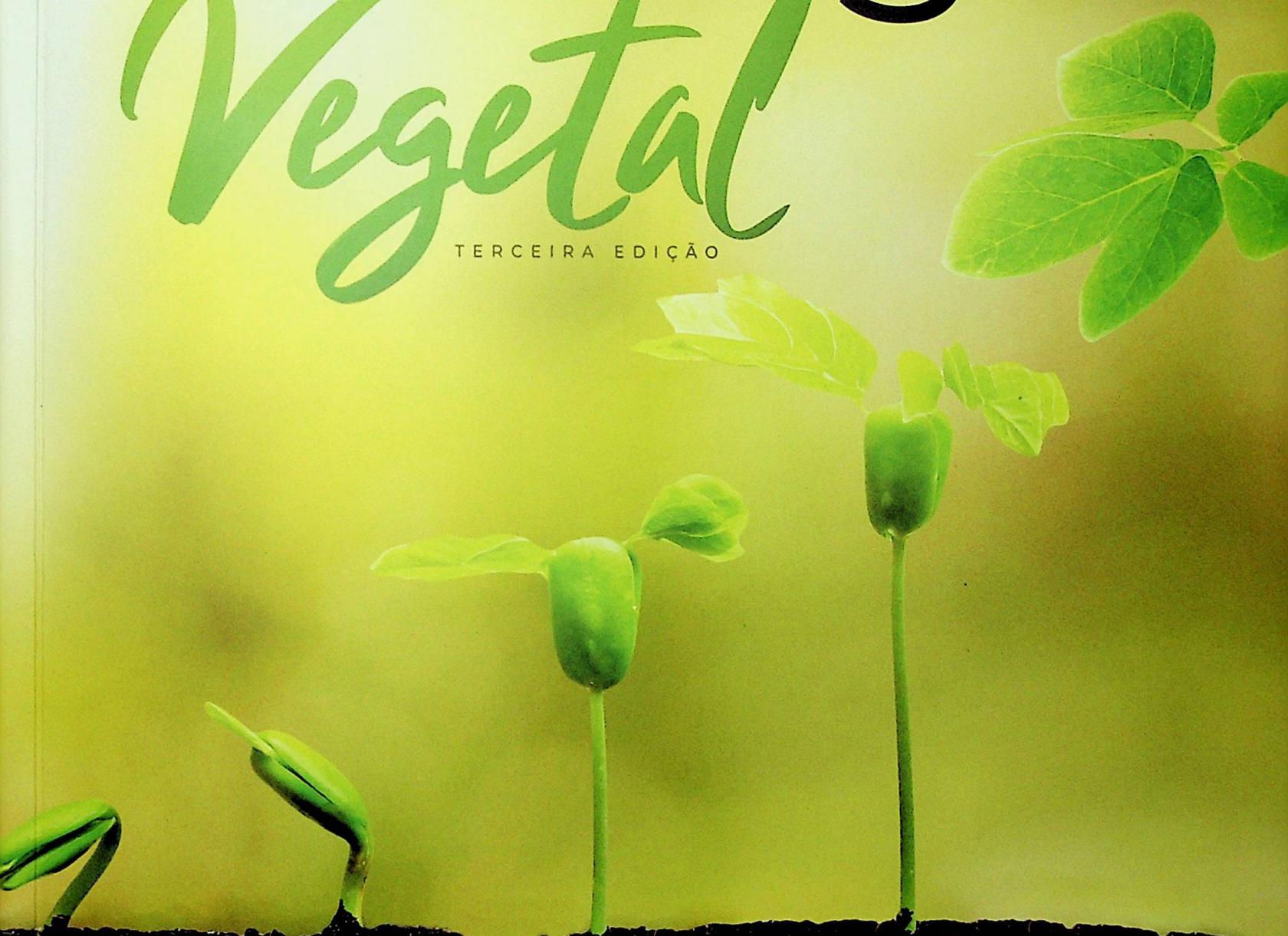


GILBERTO BARBANTE KERBAUY

Fisiologia *Vegetal*

TERCEIRA EDIÇÃO




GUANABARA
KOCOSAN

ATENÇÃO

Devido à pandemia em que o país se encontra e seguindo Diretrizes adotadas pela Universidade de São Paulo, as Bibliotecas da USP estão fechadas por tempo indeterminado, não sendo possível a utilização dos exemplares físicos disponíveis no acervo da Biblioteca do IB/USP.

Para atender demandas específicas e não prejudicar as atividades em sala de aula, este material foi digitalizado com autorização do autor da obra, para uso exclusivamente na disciplina “Forma e Função do Desenvolvimento Vegetal”.

De acordo com a lei de Direitos Autorais (Lei 9.610, de 1998), não é permitida a reprodução deste material.

Serviço de Biblioteca do IB/USP

Julho, 2020

Introdução

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio vegetal que regula vários processos no ciclo de vida das plantas. Envolvido nas respostas a estresses ambientais, como a baixa disponibilidade de água, a temperatura reduzida e a alta salinidade, esse hormônio também desempenha uma função importante no desenvolvimento e na germinação das sementes.

Sob condições ambientais desfavoráveis, o ABA regula o grau de abertura dos estômatos, reduzindo a perda de água por transpiração. Nas sementes, esse hormônio promove o acúmulo de proteínas e lipídios de reserva, a aquisição de tolerância à dessecação, além de inibir a germinação precoce do embrião em frutos ainda conectados à planta-mãe (*viviparidade*). Essas respostas em vários processos (*pleiotrópicas*) são, em geral, refletidas em padrões diferenciais de expressão gênica.

Este capítulo não pretende esgotar o assunto referente ao ácido abscísico, mas sim enfatizar os principais aspectos fisiológicos, bioquímicos e genéticos desse hormônio vegetal.

Histórico e descoberta

O hormônio vegetal ácido abscísico (Figura 12.1), descoberto na década de 1960, foi inicialmente considerado um inibidor

de crescimento e promotor de dormência de gemas. Atualmente, sabe-se que o ABA, com os demais hormônios vegetais, desempenha múltiplas funções durante o ciclo de vida das plantas. Desde a sua descoberta, pesquisas revelam que o ABA desempenha papel de destaque nas respostas das plantas a estresses ambientais, transformando em respostas biológicas de proteção os efeitos exercidos pelo ambiente, especialmente a baixa disponibilidade hídrica, a alta salinidade e as temperaturas reduzidas.

Antes da década de 1940, já eram conhecidos os efeitos dos extratos vegetais na promoção da dormência em gemas e sementes. Em anos subsequentes, estudos demonstraram que extratos obtidos a partir de diversos tecidos e espécies de plantas continham uma substância capaz de inibir o crescimento vegetal. Qualquer uma dessas pesquisas poderia ter conduzido à purificação e à identificação do ácido abscísico; entretanto, somente três delas resultaram no isolamento e na identificação desse hormônio. Essas pesquisas foram publicadas no início da década de 1960 e estão descritas resumidamente a seguir.

Nos EUA, os trabalhos de Addicott *et al.* resultaram no isolamento e na cristalização de uma substância promotora da abscisão de frutos jovens de algodão. Por se tratar de uma substância até então com propriedades físicas e químicas

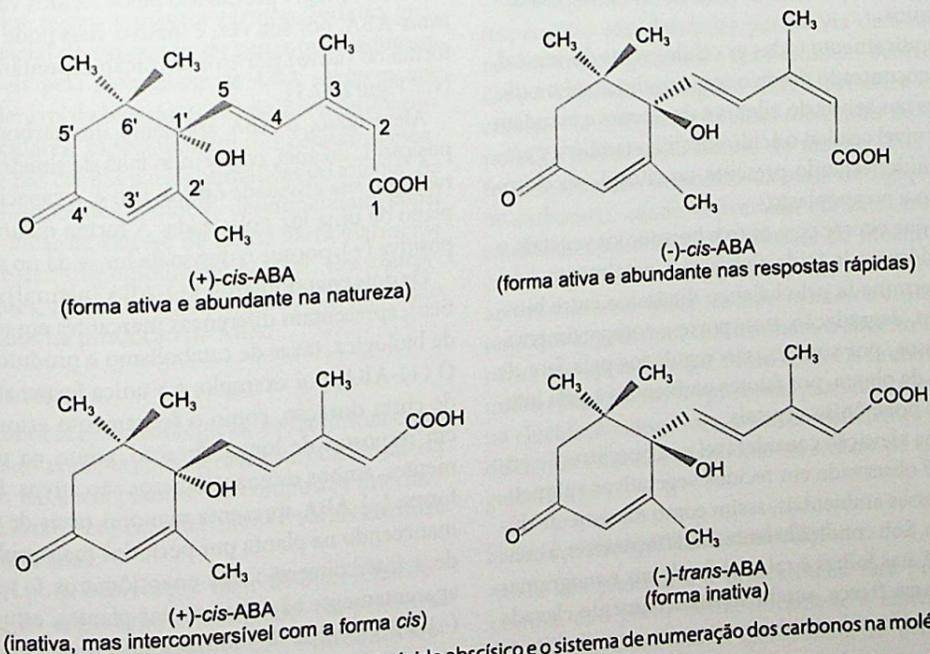


Figura 12.1 Estrutura química dos isômeros e enantiômeros do ácido abscísico e o sistema de numeração dos carbonos na molécula do (+)-*cis*-ABA.

desconhecidas, ela foi denominada abscisina II, em reconhecimento ao seu efeito promotor na abscisão. Na mesma época, Wareing *et al.*, na Inglaterra, correlacionaram a dormência de gemas na planta lenhosa *Acer pseudoplatanus* (bordo) com as alterações sazonais nos níveis de inibidores, chamando o composto responsável por esse efeito de dormina. O isolamento e a cristalização da dormina evidenciaram propriedades físicas e químicas idênticas às da abscisina II. Um terceiro grupo de pesquisadores, liderado por Van Steveninck, na Nova Zelândia e, posteriormente, na Inglaterra, verificou que frutos em desenvolvimento de *Lupinus luteus* (tremoço) produziam alguma substância responsável pela abscisão de flores e frutos jovens localizados em posição apical na inflorescência. Essa substância era capaz de inibir o crescimento de coleótilos e, por seu isolamento e purificação, os autores novamente observaram propriedades idênticas às da abscisina II.

Abscisina II, dormina e acelerador de abscisão representavam um mesmo composto, sendo necessária uma denominação comum para tal substância. Em 1967, os grupos de pesquisadores envolvidos nas investigações estabeleceram o termo "ácido abscísico", além de ABA como sua abreviação. Atualmente, alguns fisiologistas consideram esse nome inadequado, especialmente porque o ABA não é tão ativo na promoção da abscisão como se pensava inicialmente. Entretanto, o nome "ácido abscísico" está consagrado pelo uso.

Desde sua descoberta até hoje, foram editados pelo menos três livros específicos sobre o ácido abscísico (Addicott, 1983; Davies e Jones, 1991; Zhang, 2014), e há uma crescente publicação de capítulos e artigos de revisão e/ou investigação em torno do assunto.

Ocorrência nas plantas

O ácido abscísico é encontrado em todas as plantas vasculares, mas também em alguns musgos, algas verdes e fungos. Esse hormônio foi identificado em alguns mamíferos, tendo sido, entretanto, atribuído à alimentação dos animais, e não à síntese nesses organismos.

Presente em praticamente todas as células vivas do vegetal, o ABA pode ser encontrado desde o ápice caulinar até o radicular, assim como nas seivas do xilema e do floema e exsudato de nectários. Em nível celular, o ácido abscísico também é amplamente distribuído, estando presente no citosol, no cloroplasto, no vacúolo e no apoplasto.

A exemplo do que ocorre com outros hormônios vegetais, a concentração endógena de ácido abscísico é, geralmente, bastante baixa e determinada pelo balanço dinâmico entre biossíntese, inativação, degradação, transporte e compartimentação. Esses processos, por sua vez, são regulados pela fase de desenvolvimento da planta, por fatores ambientais e pela interação com outros hormônios vegetais.

Entretanto, uma elevação considerável na concentração endógena de ABA é observada em tecidos vegetativos submetidos a alguns estresses ambientais, assim como na semente durante a maturação. Sob condições ambientais favoráveis, a concentração de ABA nas folhas e raízes é de alguns nanogramas por grama de massa fresca, sendo substancialmente elevada quando as plantas são submetidas a estresses, especialmente

de déficit hídrico. O papel fisiológico do ácido abscísico na proteção a esse tipo de estresse se dá principalmente por meio da promoção do fechamento estomático, reduzindo a perda de água.

Durante o desenvolvimento de sementes, a concentração endógena de ABA nesses órgãos é geralmente superior àquela encontrada em tecidos vegetativos, atingindo valores da ordem de microgramas por grama de massa fresca. O ABA está envolvido no acúmulo de proteínas e lipídios de reserva, na aquisição de tolerância à dessecação, na inibição da germinação precoce e na imposição de dormência primária.

Vários mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA foram identificados em plantas vasculares com anomalias no desenvolvimento ou no comportamento fisiológico, como a viviparidade e a ausência de dormência e murchamento, mesmo sob estresse hídrico moderado. Enquanto nos mutantes deficientes em ABA essas anomalias podem ser revertidas ao tipo normal (selvagem) após tratamento com ácido abscísico, a aplicação desse hormônio não tem efeito nos mutantes insensíveis a ele próprio. Esses mutantes têm contribuído significativamente para o progresso das pesquisas envolvendo transdução de sinais, biossíntese e efeitos biológicos do ABA. Revisões sobre mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA podem ser encontradas em Taylor (1991), Thomas *et al.* (1997), Leung e Giraudat (1998), Finkelstein *et al.* (2002) e Humplik *et al.* (2017).

Estrutura, principais formas e atividade

O ácido abscísico é um composto com 15 carbonos, pertencente à classe dos terpenoides, cuja molécula apresenta alta semelhança estrutural com a porção terminal das xantofilas. O ABA pode apresentar-se na configuração *cis* ou *trans*, dependendo da orientação do grupo carboxila ligado ao carbono 2 de sua cadeia lateral. O isômero *cis*-ABA é a única forma que apresenta atividade biológica e corresponde à quase totalidade do ABA produzido pelos tecidos vegetais. O isômero *trans*-ABA, por sua vez, é inativo, mas pode ser convertido na forma *cis* (ativa) por isomerização espontânea quando há luz (ver Figura 12.1).

Além disso, o ABA apresenta um carbono assimétrico na posição 1' do anel, conferindo falta de simetria molecular e garantindo sua atividade óptica, isto é, a capacidade de desviar o plano de uma luz polarizada. A forma natural do hormônio é positiva (+), porque o desvio da luz se dá no sentido horário.

Os dois enantiômeros, (+)-ABA (natural) e (-)-ABA (sintético), apresentam diferenças marcantes em termos de atividade biológica, taxas de catabolismo e produtos de degradação. O (+)-ABA, por exemplo, é a única forma ativa em respostas de curta duração, como o fechamento estomático. Contudo, em respostas de longa duração, como na maturação de sementes, ambos os enantiômeros são ativos. De modo geral, a forma (-)-ABA apresenta menores taxas de degradação, permanecendo na planta por períodos mais prolongados. Apesar de a interconversão dos enantiômeros (-)-ABA e (+)-ABA aparentemente não ocorrer nas plantas, estudos indicam que (-)-ABA é capaz de induzir a síntese de (+)-ABA nos tecidos vegetais. Pesquisas recentes também revelaram que alguns

mas não todos os receptores de ABA, são capazes de interagir com ambos os enantiômeros.

Diferentemente das giberelinas e citocininas, que apresentam um grande número de compostos naturais com atividade biológica, a classe hormonal do ácido abscísico é composta basicamente por um único composto ativo de ocorrência natural, o *cis*-ABA. Alguns produtos da degradação do ABA, como o ácido faseico (PA) e o 7'-hidroxi ABA, também apresentam atividade biológica; contudo, ainda não é clara a relação entre a síntese desses compostos e as respostas observadas nos vegetais.

Estudos têm demonstrado que modificações estruturais na molécula de ABA normalmente resultam na redução ou perda de sua atividade. O éster metílico do ABA, por exemplo, é inativo nas respostas de curta duração, como nos bioensaios de inibição de crescimento e fechamento estomático. Porém, nas respostas de longa duração, esse composto pode apresentar atividade, possivelmente em razão da liberação do ABA livre.

Biossíntese e inativação

Locais de biossíntese

A distribuição e a abundância das moléculas de ABA são altamente variáveis, dependendo do estágio de desenvolvimento e das condições ambientais. Da mesma forma, a contribuição relativa da síntese local e da translocação de ABA a partir de outras células, tecidos e órgãos também pode variar drasticamente, de acordo com o evento fisiológico e as condições ambientais circundantes. Postula-se que o ABA pode ser sintetizado em praticamente todos os tecidos vivos da planta. Os precursores necessários à biossíntese do ABA estão presentes nos cloroplastos localizados em tecidos fotossintetizantes, assim como nos cromoplastos, leucoplastos e proplastídios distribuídos em frutos, embriões de sementes, raízes e outros órgãos da planta. Além disso, os metabólitos do ABA foram identificados em praticamente todos os órgãos das plantas, incluindo folhas, caules, raízes, sementes e frutos. Todavia, análises do padrão espacial de expressão de genes que codificam enzimas responsáveis pela biossíntese de ABA sugerem que uma parcela considerável da biossíntese desse hormônio ocorre nos tecidos vasculares, especialmente nas células companheiras do floema e nas células parenquimáticas do xilema. As células-guarda dos estômatos também desempenham papel de destaque como local de síntese de ABA, particularmente sob condições de baixa disponibilidade hídrica. Em contrapartida, nas sementes, aparentemente todos os tecidos estão ativamente envolvidos na produção de ABA.

Etapas da biossíntese

A combinação de abordagens fisiológicas, bioquímicas e genéticas tem permitido avanços consideráveis na elucidação da via biossintética do ABA nas plantas. Os compostos intermediários dessa via já estão bem caracterizados e várias enzimas encontram-se identificadas.

A síntese de ABA pode ocorrer por meio de duas rotas distintas dependendo do organismo considerado. Na primeira, classificada como via direta, o terpenoide de 15 carbonos farnesil pirofosfato (FPP) origina o ABA diretamente, ao passo

que a segunda rota, classificada como via indireta, envolve a síntese do composto intermediário xantoxina. Atualmente, sabe-se que a via direta de biossíntese de ABA é observada em alguns fungos, enquanto a produção desse hormônio nas plantas ocorre preferencialmente via indireta.

Várias linhas de evidências confirmam a predominância da via indireta de biossíntese de ABA nas plantas. Entre elas, pode-se destacar os estudos com diversos mutantes vivíparos (*vp*) de milho, cujas primeiras etapas da biossíntese de carotenoides são bloqueadas, resultando na incapacidade de sintetizar o ácido abscísico. Inibidores químicos da síntese de carotenoides, como a fluridona e norflurazona, também resultam em um menor acúmulo de ABA (Figura 12.2). Além disso, experimentos de incorporação de $^{18}\text{O}_2$ na molécula do ABA confirmaram a síntese desse hormônio pela via indireta, ao mostrarem que o isótopo marcado foi inserido no grupo carboxílico da cadeia lateral (C1) em vez da posição 1' do anel, como ocorre nos fungos que produzem ABA pela via direta.

Didaticamente, pode-se dividir a via indireta de biossíntese do ABA em três etapas:

1. Síntese dos carotenoides não oxigenados nos plastídios.
2. Síntese e clivagem das xantofilas nos plastídios.
3. Síntese de ABA no citosol.

Síntese dos carotenoides não oxigenados

Os carotenoides, como os demais isoprenoides, são sintetizados nos plastídios a partir de um precursor de cinco carbonos, o isopentenilpirofosfato (IPP). Originado pela via dependente ou independente do ácido mevalônico, o IPP sofre condensações sucessivas com outras unidades de isopreno, originando o geranyl pirofosfato (C_{10}), o farnesil pirofosfato (C_{15}) e, por fim, o geranylgeranyl pirofosfato (GGPP, C_{20}). Por pertencerem à via dos terpenoides, essas etapas são comuns à biossíntese das giberelinas (ver Capítulo 11).

Em seguida, moléculas de GGPP produzidas pela via dos terpenoides são desviadas para a via de síntese dos carotenoides não oxigenados, a qual também ocorre nos plastídios. Como ilustrado na Figura 12.2, a primeira etapa dessa rota consiste na conversão de duas moléculas de GGPP em fitoeno (C_{40}) pela enzima sintase do fitoeno (PSY). O fitoeno sofre dessaturação (aumento da série de ligações duplas entre os carbonos), sendo convertido em zetacaroteno na reação catalisada pela enzima dessaturase do fitoeno (PDS). O zetacaroteno formará o licopeno, que, por sua vez, dará origem ao betacaroteno. Essas reações formam o cromóforo dos carotenoides e, portanto, transformam o fitoeno incolor em licopeno, que apresenta coloração rosa. Os mutantes vivíparos de milho *vp2*, *vp5*, *vp7* e *vp9* foram particularmente importantes na elucidação dessa rota, pois são deficientes na produção de diferentes enzimas envolvidas na síntese de carotenoides (Figura 12.2).

Síntese e clivagem das xantofilas

Ainda nos plastídios, o betacaroteno será precursor da zeaxantina, e, a partir desta, iniciam-se a síntese e a clivagem das demais xantofilas (Figura 12.3). A primeira etapa da

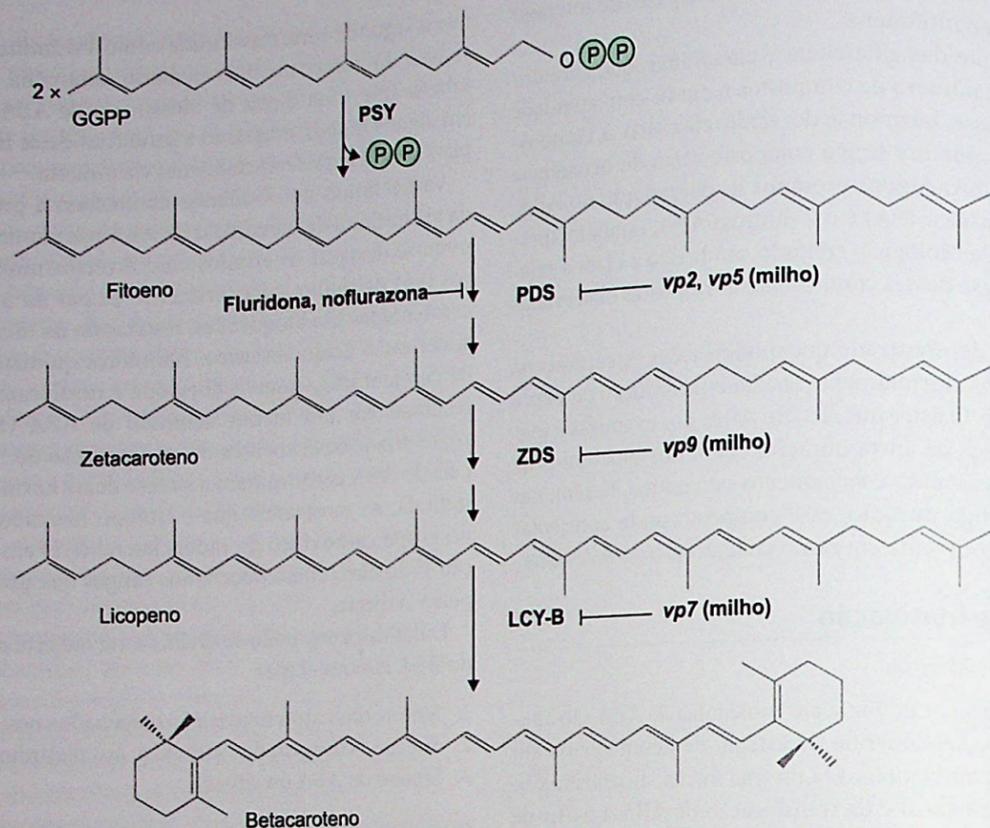


Figura 12.2 Principais etapas da biossíntese dos carotenoides não oxigenados a partir do geranylgeranyl pirofosfato (GGPP), destacando a participação das enzimas sintase do fitoeno (PSY), dessaturase do fitoeno (PDS), dessaturase do zetacaroteno (ZDS) e ciclase do licopeno (LCY-B). Alguns mutantes vivíparos (*vp*) de milho, deficientes na síntese de carotenoides e ABA, estão indicados nas etapas em que são bloqueados. Os inibidores químicos fluridona e norflurazona impedem a dessaturação do fitoeno e, portanto, bloqueiam a síntese de carotenoides.

biossíntese do ABA, a partir das xantofilas, é a conversão de zeaxantina a anteraxantina e, desta, a *trans*-violaxantina, por meio de duas reações com incorporação de oxigênio aos anéis epóxidos (epoxidação) catalisadas pela enzima epoxidase da zeaxantina (ZEP).

Em seguida, a *trans*-violaxantina é convertida em *trans*-neoxantina, e esta em 9'-*cis*-neoxantina. A *trans*-violaxantina também pode formar a 9'-*cis*-violaxantina, e esta originar a 9'-*cis*-neoxantina (Figura 12.3); contudo, essa via parece ser pouco importante nas plantas. A clivagem oxidativa da 9'-*cis*-neoxantina e/ou 9'-*cis*-violaxantina, catalisada pela dioxigenase do 9'-*cis*-epoxicarotenoide (NCED), forma a xantoxina, um epóxido de 15 carbonos semelhante ao ABA, além de um subproduto de 25 carbonos (Figura 12.3). Estudos têm demonstrado que, sob estresse hídrico, a 9'-*cis*-neoxantina é o principal substrato utilizado pela NCED para o aumento na produção de ABA.

Os mutantes *vp14* de milho e *notabilis* de tomate são deficientes em ABA, pois não realizam a clivagem oxidativa necessária para formar a xantoxina, por causa do bloqueio da NCED. Essa enzima é considerada fundamental na regulação da biossíntese do ABA nas plantas vasculares. De modo geral, os teores de transcritos e atividade da NCED aumentam rapidamente em condições de estresse hídrico, promovendo o acúmulo de ABA e, conseqüentemente, induzindo as respostas de proteção à seca.

Síntese do ABA no citosol

As últimas etapas da síntese do ABA, a partir da xantoxina, ocorrem no citosol, utilizando predominantemente uma via que tem o ABA-aldeído como intermediário. Nessa via principal, a enzima desidrogenase/reductase de cadeia curta (SDR) promove a conversão da xantoxina a ABA-aldeído, que, por sua vez, será oxidado a ABA. Esta última reação é catalisada pela enzima oxidase do ABA-aldeído (OA), que exige um cofator de molibdênio (Figura 12.3).

Em alguns mutantes, como *flacca* (*flc*) de tomateiro, *aba3* de *Arabidopsis*, *aba1* de tabaco, a síntese de ABA a partir do ABA-aldeído é bloqueada em razão da inatividade da OA por deficiência na síntese do cofator. Nesses mutantes, a xantoxina é convertida em ABA por uma via alternativa envolvendo a formação de ABA-álcool (Figura 12.3). Aparentemente, essa rota alternativa tem pouca importância nas plantas com níveis normais de atividade da OA.

Uma terceira via alternativa para a formação do ABA utiliza o ácido xantóxico como intermediário na conversão da xantoxina em ABA (Figura 12.3). A importância fisiológica dessa via nas plantas permanece ainda pouco estabelecida.

Conjugação

As plantas apresentam uma capacidade elevada de metabolizar o ABA, especialmente quando não expostas a estresses ambientais. Assim como observado para as auxinas, citocininas e

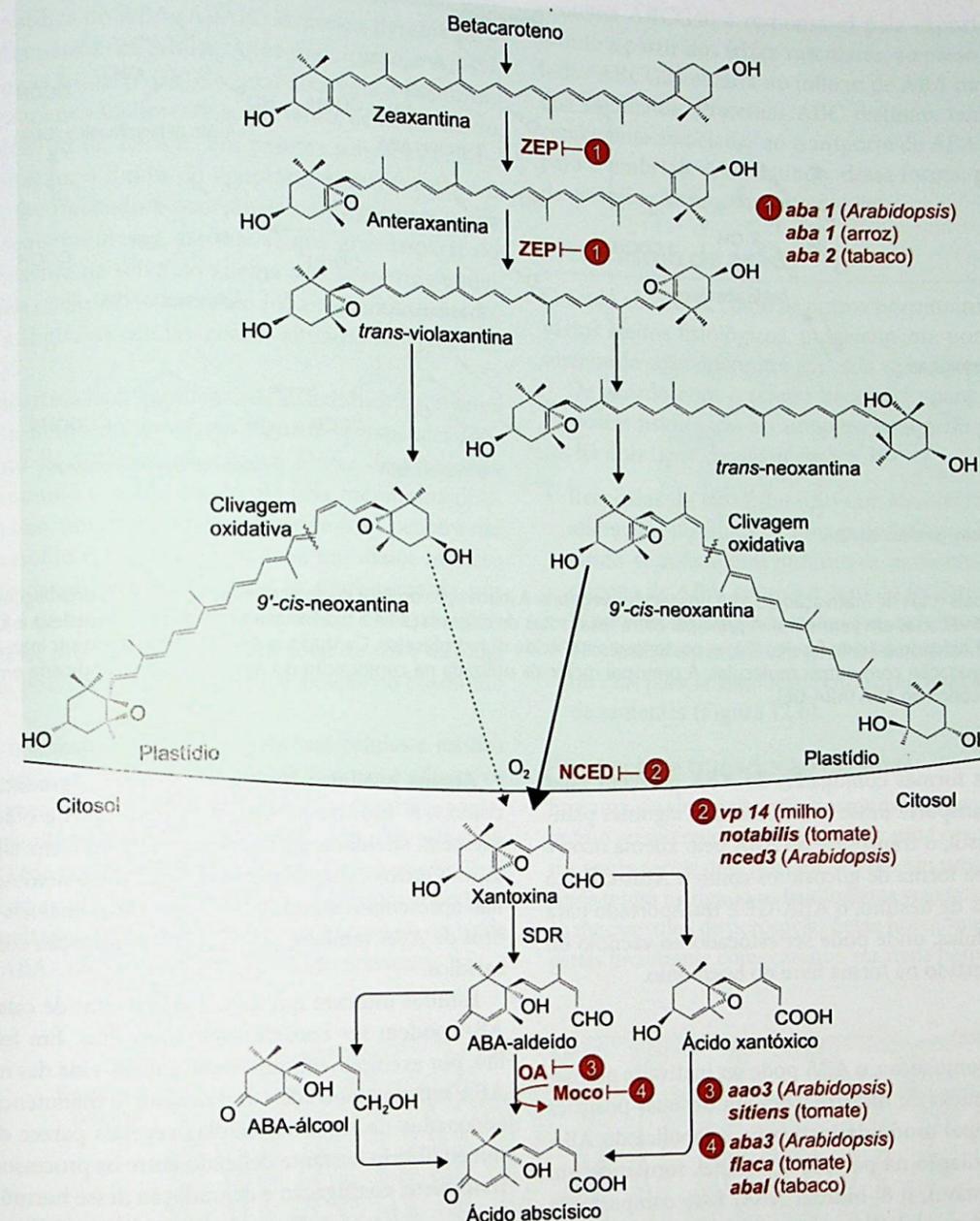


Figura 12.3 Biossíntese do ácido abscísico (ABA) a partir das xantofilas. Nos plastídios, o betacaroteno é convertido em zeaxantina e, a partir desta, iniciam-se a síntese e a clivagem das demais xantofilas. A clivagem oxidativa da 9'-*cis*-neoxantina e/ou 9'-*cis*-violaxantina forma a xantoxina, a qual é liberada para o citosol, onde originará ABA-aldeído e, então, ABA. A conversão da xantoxina em ABA também pode acontecer por rotas alternativas que envolvem os intermediários ABA-álcool e ácido xantóxico, porém essas vias são menos frequentes nas plantas. Alguns mutantes, deficientes na síntese de ABA, estão indicados nas etapas nas quais são bloqueados. ZEP: zeaxantina epoxidase; NCED: dioxigenase do 9'-*cis*-epoxicarotenoide; SDR: desidrogenase/reductase de cadeia curta; OA: oxidase do ABA-aldeído; Moco: cofator de molibdênio.

giberelinas, a inativação do ABA pode ocorrer tanto por conjugação quanto por degradação a outros compostos (Figura 12.4). A preferência entre essas duas vias de inativação parece depender da espécie, do tipo de tecido e do estágio de desenvolvimento do vegetal.

Em alguns tecidos, a conjugação do ABA com monossacáridos parece ser o principal caminho de inativação desse hormônio. A forma mais comum de ABA conjugado é o éster glicólico do ABA (ABA-GE), no qual o grupo carboxílico (C1) se encontra ligado covalentemente a uma molécula de glicose (Figura 12.4). Além de modificar a atividade biológica e algumas

características químicas da molécula, como a polaridade, a conjugação altera a distribuição celular do ABA. Enquanto a forma livre do hormônio situa-se principalmente no citosol, o ABA-GE localiza-se nos vacúolos e no apoplasto.

Atualmente, sabe-se que os tecidos vegetais conseguem converter as formas conjugadas em ABA livre por meio da atividade de betaglicosidases localizadas no retículo endoplasmático. Assim, a conjugação do ABA representa uma forma de inativação reversível, podendo constituir um importante modo de estocagem e regulação dos níveis endógenos desse hormônio.

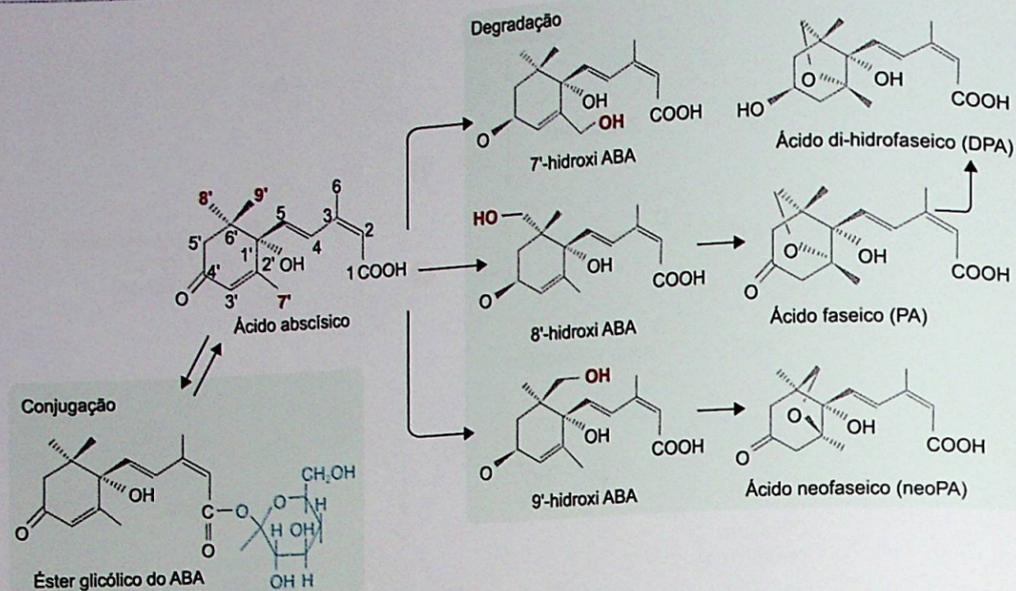


Figura 12.4 Principais rotas de inativação do ABA nos tecidos vegetais. A inativação do ABA pode ocorrer por meio de hidroxilações nas posições 7', 8' ou 9' do anel (indicadas em vermelho). A principal entre essas rotas de degradação é a hidroxilação na posição 8', que leva à formação de 8'-hidroxi ABA, o qual é oxidado a ácido faseico (PA) e, posteriormente, ácido di-hidrofaseico. Contudo, o ABA também pode ser inativado de forma reversível pela conjugação com outras moléculas. A principal molécula utilizada na conjugação do ABA é a glicose (indicada em azul), dando origem ao éster glicólico do ABA (ABA-GE).

Além disso, as formas conjugadas do ABA parecem estar envolvidas no transporte desse hormônio. Em algumas plantas, como o girassol, o transporte de ABA pelo xilema ocorre principalmente na forma de glicosídeos como o ABA-GE. Ao atingir seus locais de destino, o ABA-GE é transportado para o interior das células, onde pode ser estocado no vacúolo ou novamente convertido na forma livre do hormônio.

Degradação

Ao contrário da conjugação, o ABA pode ser inativado permanentemente por meio de hidroxilações em diversas posições do anel. O principal modo de inativação catabólica do ABA ocorre via hidroxilação na posição 8' do anel, formando um intermediário instável, o 8'-hidroxi ABA. Esse composto dá origem ao primeiro catabólito estável do hormônio, o ácido faseico (PA), que, quando oxidado, forma o ácido di-hidrofaseico (DPA). Esses dois ácidos foram identificados em um grande número de espécies e representam os principais produtos do catabolismo do ABA.

A enzima 8'-hidroxilase do ABA, responsável pela formação do 8'-hidroxi ABA, é considerada um elemento-chave no controle da degradação do ABA, sendo fortemente induzida pela reidratação dos tecidos após períodos de seca. Além disso, o bloqueio da atividade dessa enzima por meio de mutações resulta em um grande acúmulo de ABA nas plantas.

A hidroxilação da molécula do ABA na posição 7' do anel, formando o 7'-hidroxi ABA, é considerada uma via de degradação do ABA pouco frequente na maioria das plantas analisadas. Contudo, a importância da degradação do ABA por meio da formação do 9'-hidroxi ABA e do ácido neofaseico (neoPA) ainda não é bem estabelecida (ver Figura 12.4).

Alguns produtos intermediários da degradação do ABA, como o 8'-hidroxi ABA, o 9'-hidroxi ABA e o ácido faseico, exercem atividade semelhante à do ABA em alguns bioensaios. Outros catabólitos, como o DPA e o neoPA, geralmente não apresentam atividade mensurável. A maioria dos catabólitos de ABA também pode sofrer conjugação com monossacarídeos.

Estudos indicam que as taxas absolutas de catabolismo do ABA podem ser consideravelmente altas. Em folhas de milho, por exemplo, estima-se que a meia-vida das moléculas de ABA seja de menos de 1 h. Portanto, a manutenção de níveis adequados de ABA nas células vegetais parece depender de um equilíbrio bastante delicado entre os processos de síntese, transporte, conjugação e degradação desse hormônio.

Transporte

O ácido abscísico é facilmente transportado pelo floema, pelo xilema e pelas células parenquimáticas, havendo intercâmbio entre folhas adultas, folhas jovens e raízes. Um número crescente de evidências confirma a existência de transporte de ABA de uma folha para outra, das folhas para as raízes, de órgãos vegetativos para sementes, e de tecidos maternos para os tecidos zigóticos (embrião e endosperma) na semente.

Além do transporte pelos feixes vasculares, a distribuição do ABA é afetada por sua compartimentação tecidual e intracelular. Postula-se, atualmente, que a entrada e a saída do ABA nas células vegetais podem ocorrer tanto de forma passiva quanto por meio da ação de transportadores.

A entrada passiva do ABA nas células vegetais obedece ao conceito de *aprisionamento de ânions* em meio alcalino e se baseia no deslocamento de equilíbrio entre as formas protonada (ABA^H) e desprotonada (ABA⁻) desse hormônio em

função de mudanças no pH do apoplasto. A molécula não dissociada lipofílica do ABA (ABA^H) atravessa livremente a membrana plasmática das células. Após sua difusão, o ABA^H se dissocia como ânion (ABA⁻), o qual atravessa a membrana plasmática menos facilmente e, portanto, se acumula no meio mais alcalino do citosol. Em plantas sob boas condições de hidratação, o fluido do apoplasto apresenta pH em torno de 6,3, favorecendo a ocorrência da forma protonada ABA^H. Consequentemente, assume-se que grande parte do hormônio presente na seiva do xilema seja absorvida e metabolizada pelas células do mesófilo foliar. Como resultado, pouco ABA atingirá as células-guarda situadas na epiderme (Figura 12.5).

Em contrapartida, sob condições de déficit hídrico, a seiva do xilema e o fluido do apoplasto tornam-se mais alcalinos (pH em torno de 7,2), favorecendo a forma desprotonada ABA⁻ e diminuindo o gradiente de pH pela membrana plasmática. Com isso, uma menor quantidade de ABA penetra nas células do mesófilo e, consequentemente, um maior número de moléculas desse hormônio atinge as células-guarda por meio do fluxo de transpiração (Figura 12.5). Cabe ressaltar que durante esse processo a quantidade total de ABA na folha não é afetada, pois apenas há uma redistribuição do hormônio disponível.

Contudo, o transporte ativo do ABA nas células e tecidos vegetais depende de transportadores de influxo e efluxo, os quais foram recentemente identificados. Entre os transportadores transmembrana de ABA já identificados, as proteínas do tipo ABC (do inglês, *ATP-binding cassette*) merecem destaque. Evidências genéticas indicam que múltiplos membros da família multigênica ABC cooperam na entrada e na saída celular do ABA. Por exemplo, estudos demonstram que a

proteína ABCG40 é responsável pela exportação desse hormônio a partir dos feixes vasculares, ao passo que o transportador ABCG25 atua no influxo de ABA nas células-guarda dos estômatos. Proteínas ABC distintas também foram recentemente associadas ao transporte de ABA do endosperma para o embrião, contribuindo, dessa forma, para a supressão da germinação precoce da semente.

Mecanismo de ação

O ácido abscísico, como os outros hormônios vegetais, exerce vários efeitos fisiológicos, possivelmente por meio de mecanismos de ação diferentes em cada tipo de tecido vegetal.

De acordo com o tempo necessário para que ocorram as respostas fisiológicas ao aumento endógeno de ácido abscísico, há dois tipos de classificação:

- Respostas de curta duração que envolvem principalmente alterações no fluxo de íons e no balanço hídrico, completando-se após alguns minutos do aumento no conteúdo endógeno de ABA, como é o caso do fechamento estomático
- Respostas de longa duração que envolvem alterações mais profundas na expressão gênica, demorando algumas horas ou dias para se manifestarem, como é o caso da maturação de sementes (Figura 12.6).

Percepção e transdução de sinal

Em uma via de sinalização hormonal típica, a ligação do hormônio ao seu receptor desencadeia uma cascata de mensageiros secundários que, por fim, resulta em uma resposta celular. Após terem intrigado os fisiologistas vegetais por muitos anos, os mecanismos de percepção desse hormônio pelas células vegetais finalmente começaram a ser mais bem esclarecidos.

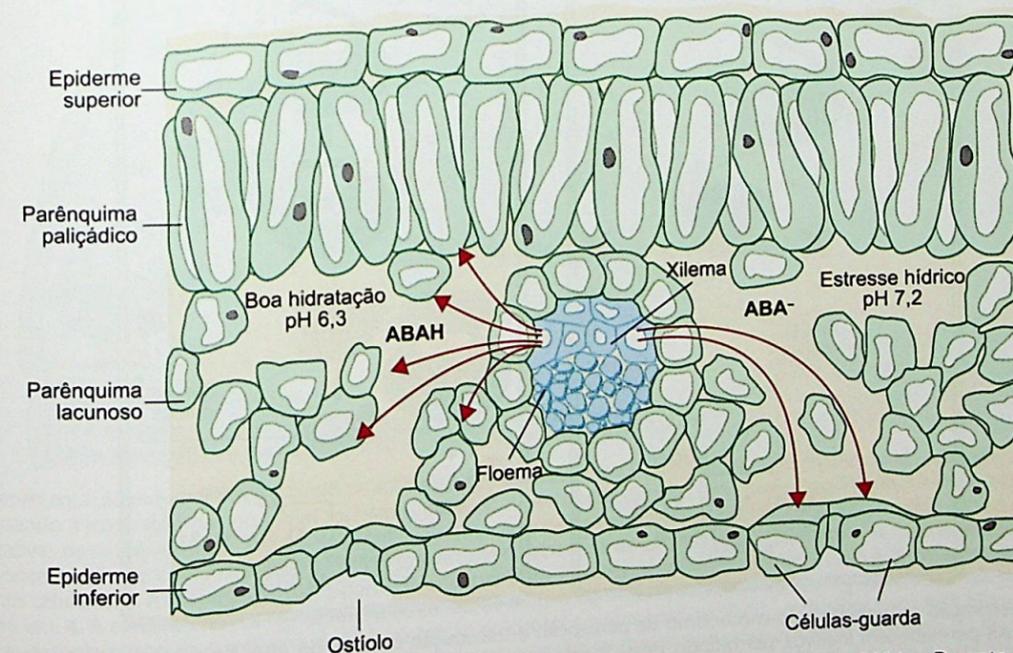


Figura 12.5 Redistribuição do ABA em tecidos foliares durante a alcalinização do apoplasto pelo estresse hídrico. Durante eventos de seca, a seiva do xilema torna-se mais alcalina, favorecendo a forma dissociada do ABA (ABA⁻), a qual atravessa menos facilmente as membranas. Como resultado, sob condições de estresse hídrico, uma menor quantidade de ABA é absorvida pelas células do mesófilo e, consequentemente, mais ABA atinge as células-guarda.

O modelo atual de percepção e sinalização do ABA baseia-se na interação entre receptores, proteínas fosfatases e proteínas cinases (Figura 12.7). De acordo com esse modelo, na ausência de ABA, as proteínas-cinases do tipo SnRK (do inglês, *sucrose non-fermenting 1-related subfamily*) são desfosforiladas/inativadas pelas proteínas fosfatases do tipo PP2C.

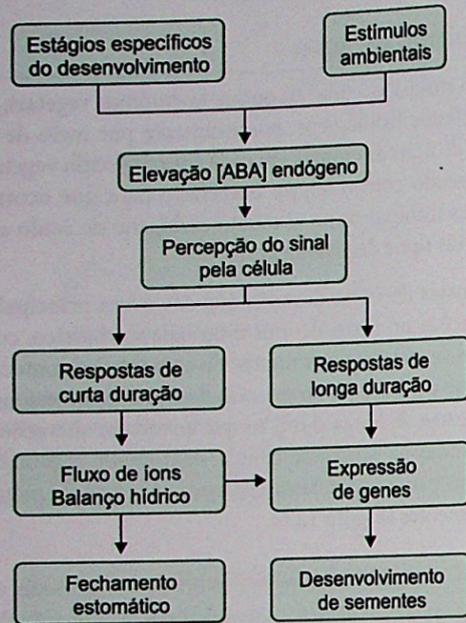


Figura 12.6 Representação esquemática do mecanismo de ação e dos efeitos fisiológicos do ácido abscísico nas plantas.

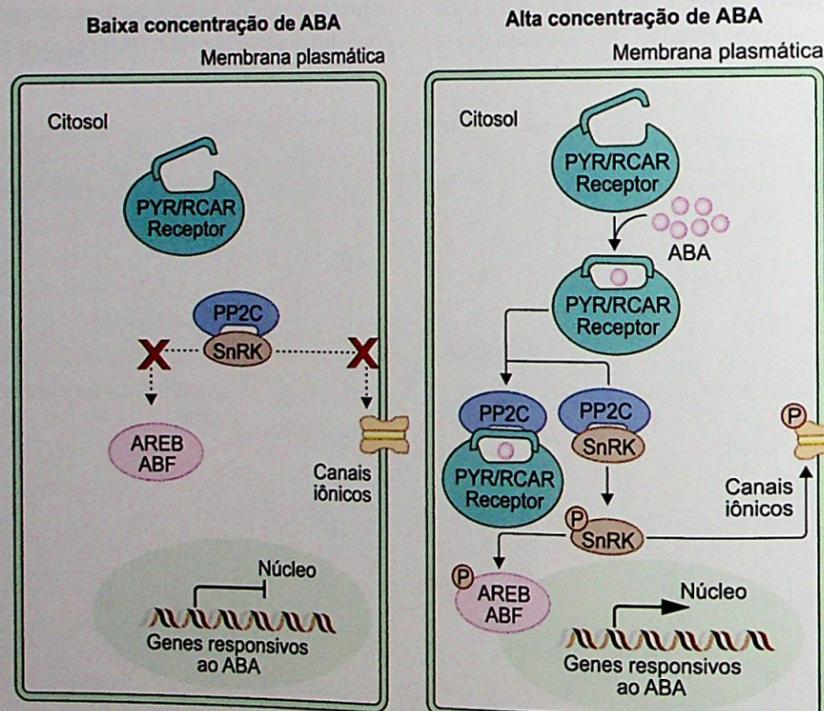


Figura 12.7 Representação esquemática do mecanismo de percepção e transdução de sinal do ABA. Na ausência de moléculas de ABA, os receptores PYR/RCAR permanecem inativos, permitindo, dessa forma, que as fosfatases PP2C inibam a atividade regulatória das cinases SnRK sobre fatores de transcrição e canais iônicos respondivos ao ABA. Contudo, ao se ligarem ao ABA, as proteínas PYR/RCAR são ativadas e passam a serem fosforiladas pelas SnRK, merecendo destaque os canais iônicos presentes nas membranas celulares, bem como os fatores de transcrição AREB e ABF, os quais regulam a transcrição de diversos genes respondivos ao ABA.

perdendo a capacidade de fosforilar os fatores de transcrição e canais de transporte de íons respondivos ao ABA.

Em contrapartida, com o aumento na concentração de ABA nas células vegetais, moléculas do hormônio se ligam aos receptores PYR/RCAR (do inglês, *pyrabactin resistance/regulatory component of ABA receptors*), os quais sofrem alterações estruturais e passam a interagir com as proteínas PP2C, inativando-as. As proteínas-cinases SnRK são então liberadas da repressão pelas PP2C, sofrendo autofosforilação e, subsequentemente, regulando a atividade de seus alvos via eventos de fosforilação (Figura 12.7). Os alvos de fosforilação das SnRK incluem canais iônicos localizados nas membranas celulares, bem como fatores de transcrição tipicamente respondivos ao ABA, como as proteínas AREB e ABF.

Além das proteínas fosfatases do tipo PP2C e cinases do tipo SnRK, a transdução de sinal do ABA durante certos processos fisiológicos pode envolver outros mensageiros secundários, incluindo radicais livres, íons, fosfoinositídeos, entre outros. Tendo em vista que grande parte do conhecimento atual acerca da transdução do sinal do ABA se baseia no controle do fechamento estomático, nesta seção serão discutidas as principais etapas envolvidas na sinalização desse processo.

Como discutido no Capítulo 1, o mecanismo de abertura e fechamento estomático depende de alterações na turgescência das células-guarda, as quais são responsáveis pelo grau de abertura do poro ou ostíolo. A turgescência dessas células, por sua vez, é regulada por meio do fluxo de íons pela membrana plasmática e pelo tonoplasto, especialmente o cátion potássio (K⁺) e os ânions cloro (Cl⁻) e malato²⁻ (ver

Capítulo 1). Esse controle do fluxo de íons durante o fechamento estomático é regulado, entre outros fatores, pela cascata de transmissão do sinal do ABA, a qual envolve diversas etapas (Figura 12.8).

A cascata de sinalização do ABA nas células-guarda tem início com a ligação do ABA aos receptores PYR/RCAR, desencadeando a interação entre esses receptores e as proteínas fosfatases PP2C. Eventos de fosforilação subsequentes regulam transportadores de influxo e efluxo de íons ancorados tanto na membrana plasmática quanto no tonoplasto. Ao mesmo tempo, diversos outros mensageiros secundários participam da cascata de sinalização do ABA nas células-guarda, amplificando as respostas e ajustando outros processos relacionados com os movimentos estomáticos.

Estudos realizados em diversas espécies indicam que a percepção do ABA nas células-guarda leva um rápido aumento na concentração de cálcio citosólico ([Ca²⁺]_{cit}), resultante do influxo desse íon a partir do apoplasto, bem como de sua liberação a partir de estoques intracelulares, como o vacúolo e o retículo endoplasmático.

O influxo de Ca²⁺ extracelular é estimulado por espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) produzidas logo após a ligação do ABA ao seu receptor. As

principais formas de ROS que atuam como mensageiros secundários do ABA durante o fechamento estomático são o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o ânion superóxido (O₂⁻).

A liberação do Ca²⁺ dos estoques intracelulares, por sua vez, é disparada por meio da elevação nos teores de outros mensageiros secundários do ABA, como o inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃), o óxido nítrico (NO), a adenosina difosfato ribose cíclica (cADPR), ou, ainda, pelo próprio aumento nos níveis de Ca²⁺ citosólico.

O resultado imediato da entrada de íons Ca²⁺ no citosol consiste em uma despolarização transitória da membrana plasmática, ou seja, uma perda temporária da diferença de cargas elétricas entre os dois lados da membrana. Essa despolarização temporária não é suficiente para ativar os canais de efluxo de K⁺, os quais requerem despolarizações de longa duração. Contudo, a elevação nos teores citosólicos de Ca²⁺ aliada à despolarização transitória da membrana ativam os canais de efluxo de ânions, fazendo com que grandes quantidades de Cl⁻ e malato²⁻ sejam liberadas para o apoplasto, a favor de seus gradientes eletroquímicos. Esse efluxo de ânions é mantido ativo prolongadamente, ocasionando uma despolarização da membrana plasmática de longa duração, a qual, por sua vez, ativa os canais de efluxo de K⁺.

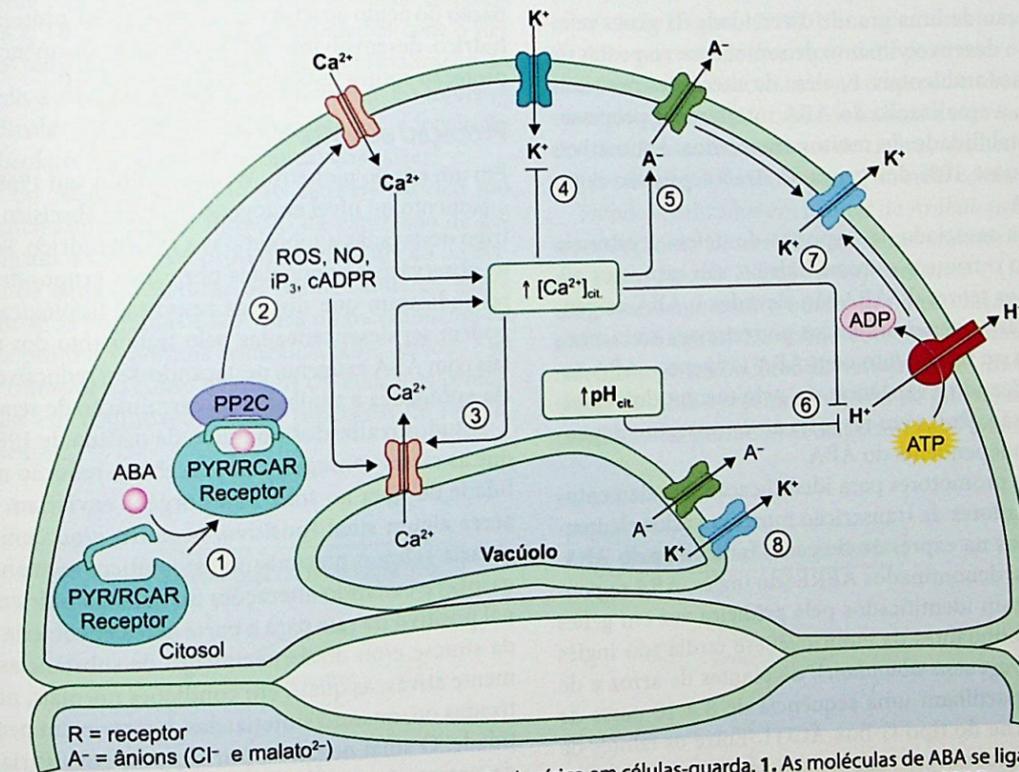


Figura 12.8 Representação esquemática do modo de ação do ácido abscísico em células-guarda. 1. As moléculas de ABA se ligam aos receptores PYR/RCAR causando a inativação das proteínas fosfatases PP2C. 2. A percepção do ABA pelo complexo PYR/RCAR-PP2C estimula a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃), adenosina difosfato ribose cíclica (cADPR) e óxido nítrico (NO), bem como o aumento na concentração de cálcio citosólico ([Ca²⁺]_{cit}) em virtude da abertura de canais de Ca²⁺ presentes na membrana plasmática e outros compartimentos celulares. 3. A liberação do Ca²⁺ a partir de estoques intracelulares também é estimulada pelo próprio aumento na concentração de cálcio citosólico. 4. A elevação no [Ca²⁺]_{cit} induzida pelo ABA estimula a abertura de canais de efluxo de ânions (A⁻) e a inibição da bomba de H⁺. 5. O aumento no [Ca²⁺]_{cit} ativa os canais de efluxo de K⁺. 6. A alcalinização do citosol e o aumento no [Ca²⁺]_{cit} induzidos pelo ABA bloqueiam a bomba de prótons da membrana, acentuando sua despolarização. 7. A despolarização da membrana ativa os canais de efluxo de K⁺. 8. Antes de serem transportados para o apoplasto, os cátions K⁺ e ânions Cl⁻ e malato²⁻ são liberados do vacúolo para o citosol. A perda desses íons para o apoplasto é acompanhada da saída de água da célula-guarda, reduzindo sua turgescência e, consequentemente, desencadeando o fechamento estomático. Para facilitar a compreensão, a regulação dos canais iônicos via eventos de fosforilação não se encontra representada nesse esquema. (As setas indicam ativação, e as barras inibição).

Apesar do papel central do Ca^{2+} citosólico no controle da abertura estomática, estudos têm demonstrado que o fechamento estomático também pode ser induzido pelo ABA por meio de uma rota independente desse íon. Nessa via alternativa, o ABA desencadeia uma alcalinização do citosol da célula-guarda, a qual inibe a atividade das bombas de prótons (H^+ -ATPase) da membrana plasmática. A inibição do bombeamento de H^+ para fora da célula intensifica a despolarização da membrana plasmática, ativando os canais de efluxo de K^+ . Semelhante inibição da H^+ -ATPase também é causada pelo acúmulo de Ca^{2+} no citosol, evidenciando, portanto, um ponto de convergência entre as vias dependente e independente de Ca^{2+} (ver Figura 12.8).

O resultado final da transdução do sinal do ABA nas células-guarda é uma liberação massiva dos íons K^+ , Cl^- e malato²⁻ do vacúolo para o citosol e, posteriormente, do citosol para o apoplasto. A perda desses íons para o meio extracelular é acompanhada de uma saída de água da célula-guarda, reduzindo sua turgescência e, conseqüentemente, desencadeando o fechamento estomático.

Expressão gênica

Além de desencadear respostas fisiológicas por meio do controle do fluxo de íons e balanço hídrico, o ABA está envolvido na regulação de uma grande diversidade de genes relacionados com o desenvolvimento de sementes e respostas de defesa a estresses ambientais. E, além de alterações nas taxas de transcrição, a sinalização do ABA interfere no processamento e na estabilidade de muitos transcritos. Estimativas indicam que quase 10% dos genes de *Arabidopsis* são regulados pelo ABA.

Muitos genes associados a respostas de defesa a estresses abióticos, como o frio e o estresse hídrico, são expressos somente quando os teores de ABA são elevados – ABA-exigentes. Contudo, vários genes induzidos por estresses ambientais são indiferentes ao tratamento com ABA exógeno – ABA-insensíveis –, indicando a existência de, pelo menos, dois caminhos de expressão gênica em resposta ao estresse: um dependente e outro independente do ABA.

A análise dos promotores para identificação dos elementos *cis* e *trans* mediadores da transcrição mostrou vários elementos *cis* envolvidos na expressão de genes induzida pelo ABA. Esses elementos, denominados ABRE (do inglês, *ABA response elements*), foram identificados pela primeira vez em genes das proteínas abundantes da embriogênese tardia (do inglês *LEA, late-embryogenesis-abundant*), de plantas de arroz e de trigo. Eles compartilham uma sequência de 8 a 10 pares de bases com o cerne do tipo G-box ACGT. Entre os fatores de transcrição que reconhecem tais sequências de pares de bases, destacam-se as proteínas AREB (do inglês, *ABA-binding proteins*) e ABF (do inglês, *ABA-binding factors*).

Principais funções

Diferentemente dos animais, as plantas são indivíduos sésseis, sendo a semente a única fase móvel capaz de conquistar novos ambientes. Sujeitas às variações ambientais, as plantas desenvolvem, durante o processo evolutivo, mecanismos de proteção

contra as lesões causadas por condições adversas. Entre eles, destacam-se os hormônios vegetais, os quais atuam de forma integrada em processos bastante complexos, para acelerar, reduzir ou manter a atividade fisiológica nos diferentes órgãos, tecidos e células. O ácido abscísico, por exemplo, exerce múltiplos efeitos nas plantas, geralmente relacionados com a atividade dos outros hormônios, especialmente giberelinas, citocininas, etileno e brassinosteroides.

A combinação de diferentes procedimentos experimentais tem permitido uma melhor compreensão dos efeitos exercidos por esse hormônio. Entre as principais abordagens utilizadas no estudo da influência do ABA sobre eventos fisiológicos, destacam-se: os tratamentos com ABA exógeno; a correlação entre a indução de respostas fisiológicas e os níveis endógenos de ABA; a redução ou remoção do ABA endógeno por meio de inibidores de síntese de carotenoides ou de procedimentos genéticos utilizando mutantes com alterações em pontos específicos do metabolismo, percepção ou transdução de sinal desse hormônio.

Apesar de o ABA ter sido inicialmente identificado como um promotor da abscisão, sabe-se atualmente que seu efeito é indireto, ocorrendo pelo aumento na síntese de etileno, o qual é de fato o hormônio responsável por esse processo. Por sua vez, um número crescente de evidências confirma a participação do ácido abscísico nas respostas de proteção ao estresse hídrico, desenvolvimento de sementes, dormência de gemas e proteção contra lesões.

Proteção ao estresse hídrico

Em um estudo pioneiro, Wright e Hiron, em 1969, verificaram o aumento no nível endógeno de ácido abscísico em folhas de trigo destacadas e submetidas a déficit hídrico. Posteriormente, observações conduzidas por vários grupos de pesquisadores indicaram que diversas respostas fisiológicas ao estresse podem ser desencadeadas pelo tratamento dos tecidos vegetais com ABA exógeno, destacando-se a redução da condutância estomática e a inibição na germinação de sementes.

Estudos realizados no início da década de 1980 sugeriram que as raízes conseguiriam perceber a redução na disponibilidade de água no solo. Esses órgãos enviariam para a parte aérea algum sinal (positivo, negativo e/ou cumulativo) que atuaria sobre o mecanismo estomático, regulando as trocas gasosas e evitando alterações no balanço hídrico foliar. O sinal positivo da raiz para a parte aérea envolveria a promoção da síntese e/ou do fornecimento de substâncias fisiologicamente ativas, as quais, em condições normais, não são sintetizadas ou, quando sintetizadas, ocorrem em pequena quantidade. O sinal negativo, por sua vez, consistiria na inibição da síntese e/ou do fornecimento de substâncias normalmente sintetizadas e/ou exportadas pela raiz não estressada. O sinal cumulativo corresponde ao acúmulo de substâncias na parte aérea, em virtude do bloqueio de seu transporte e da exportação para as raízes.

Poucos anos depois, estudos liderados por W.J. Davies, na Inglaterra, evidenciaram que, em plantas submetidas a estresse hídrico, o ácido abscísico atua como um sinal positivo, sendo transportado da raiz para a parte aérea pelo xilema. As raízes localizadas nas camadas superficiais do solo seriam as

responsáveis pela percepção do déficit hídrico, o qual estimula a síntese de ABA nesses órgãos. Como resultado, mais ABA é transportado para a parte aérea pela corrente transpiratória do xilema, provocando o fechamento estomático e reduzindo a perda de água por transpiração. Enquanto isso, as raízes mais profundas e em contato com regiões ainda úmidas do solo mantêm a absorção de água, preservando, dessa forma, a turgescência celular.

Entretanto, a imposição de estresse hídrico não resulta sempre em um aumento rápido no teor de ABA no sistema radicular. O estresse pode resultar em uma maior sensibilidade dos tecidos ao ABA e/ou em uma redistribuição ou síntese do hormônio nas folhas. O aumento de ABA nas folhas é geralmente independente, pelo menos no início do estresse, de sua concentração na seiva do xilema.

O ABA exerce um efeito diferencial sobre o crescimento da raiz e da parte aérea em plantas submetidas ao estresse hídrico. Enquanto o aumento na concentração desse hormônio mantém o crescimento do sistema radicular, permitindo a exploração de um maior volume de solo para absorção de água, o ABA inibe o alongamento do caule. Em consonância, observa-se que o crescimento do sistema radicular de mutantes de *Arabidopsis* deficientes (*aba1*) ou insensíveis (*abi1*) ao ABA geralmente não é estimulado por reduções na disponibilidade hídrica. Diversos processos relacionados com o desenvolvimento radicular são influenciados pela sinalização do ABA, incluindo a atividade do centro quiescente no meristema apical radicular, a formação de raízes laterais, a formação dos pelos radiculares e as respostas trópicas das raízes.

Os efeitos do ABA na proteção ao estresse hídrico são exercidos principalmente pela indução da expressão de genes que codificam a síntese de proteínas com função de evitar as perdas de água e restaurar os danos celulares. Entre essas, incluem-se as proteínas envolvidas no metabolismo da sacarose e da prolina – solutos osmoticamente ativos –; as proteínas de transporte, como os canais de íons, e as proteínas envolvidas em degradações e em processos de reparo, como as proteases.

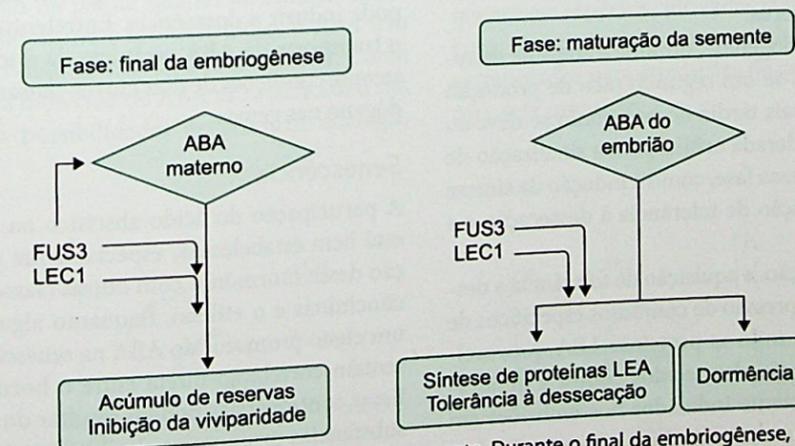


Figura 12.9 Rotas de sinalização envolvidas no desenvolvimento da semente. Durante o final da embriogênese, o aumento nos teores de ABA de origem materna é responsável pelo acúmulo de reservas na semente e inibição da viviparidade. Na fase de maturação da semente, por sua vez, o embrião é a principal fonte de acúmulo do ABA, o qual é necessário para induzir a síntese de proteínas LEA, a aquisição de resistência ao dessecação e a dormência da semente. Fatores de transcrição como o *fusca 3* (FUS3) e o *leaf cotyledon 1* (LEC1) atuam em conjunto com o ABA. Adaptada de Finkelstein et al. (2002).

Desenvolvimento da semente

O ABA tem sido considerado um importante regulador de vários processos que ocorrem durante os dois últimos estágios de desenvolvimento da semente: a última metade da embriogênese e o início da maturação. Na maioria das espécies, essas duas etapas do desenvolvimento da semente são acompanhadas de elevações pronunciadas na concentração endógena de ABA.

Na semente em formação, o ABA pode ser produzido tanto pelo embrião quanto pelo tecido materno. Estudos genéticos realizados com mutantes de *Arabidopsis* deficientes em ABA revelaram que essas duas fontes do hormônio atuam em momentos e processos distintos durante a formação da semente (Figura 12.9).

Durante a última metade da embriogênese, observa-se o primeiro e principal pico de produção do ácido abscísico, sendo este hormônio produzido exclusivamente pelos tecidos maternos. Justamente nessa fase do desenvolvimento da semente, cessam as divisões celulares no corpo do embrião, o qual passa a crescer apenas por expansão celular. Paralelamente, inicia-se o acúmulo de substâncias de reserva na semente, como proteínas, lipídios e carboidratos (ver Capítulo 20).

O ABA produzido pelos tecidos maternos nesse período é considerado fundamental para inibir a viviparidade, ou seja, a germinação precoce do embrião em frutos ainda conectados à planta-mãe (Figura 12.10). Um mecanismo possível para a ação do ABA no controle da viviparidade parece ser a sua capacidade de inibir as divisões celulares no corpo do embrião. Sabe-se, por exemplo, que o ABA é capaz de induzir a expressão de um inibidor das cinases dependentes de ciclina, mantendo, portanto, as células na transição de G_1 para S do ciclo celular.

Estudos realizados em plantas de *Arabidopsis* revelaram que a produção de fatores de transcrição inibitórios à viviparidade, como *fusca 3* (FUS3) e *leaf cotyledon 1* (LEC1), coincide temporalmente com o aumento na produção do ABA pelos tecidos maternos. De modo coerente, durante a última fase da embriogênese, o fator de transcrição FUS3 estimula o conteúdo de ABA e reprime os níveis de giberelinas, as quais são consideradas promotoras da germinação (ver Figura 12.9).



Figura 12.10 Germinação precoce do mutante *notabilis* de tomate, o qual é deficiente na síntese de ABA em virtude da incapacidade de realizar a clivagem oxidativa necessária para a formação da xantoxina. Imagem cedida pelo Dr. Lázaro E. P. Peres (ESALQ-USP).

Evidências diretas da participação do ABA endógeno na supressão da germinação precoce também foram obtidas por mutantes de milho deficientes na síntese desse hormônio (*vp2*, *vp5*, *vp7*, *vp9*, *vp14*), cujas altas taxas de viviparidade podem ser revertidas com a aplicação de ABA exógeno. Além disso, sabe-se que, enquanto embriões isolados e cultivados em meio de cultura são capazes de germinar, em presença de ABA esse processo não é observado.

Ainda durante a última metade da embriogênese, o ABA produzido pelos tecidos maternos parece influenciar também o acúmulo de reservas na semente. Mutantes deficientes ou insensíveis ao ABA normalmente apresentam uma redução na síntese e no acúmulo de proteínas nos tecidos de reserva de suas sementes. Além disso, em muitas espécies, o tratamento de embriões isolados com ABA exógeno também resulta no aumento da estocagem de proteínas de reserva.

Portanto, o ABA produzido durante a última metade da embriogênese teria duas funções principais sobre o desenvolvimento da semente: inibir a viviparidade e estimular o acúmulo de substâncias de reserva.

Após o término da embriogênese, durante a etapa de maturação da semente, observa-se um segundo pico de produção de ABA. Essa produção mais tardia do hormônio se deve ao próprio embrião e é considerada crítica para a sinalização de processos característicos dessa fase, como a indução da síntese de proteínas LEA, a aquisição de tolerância à dessecação e a inibição da germinação.

Nas sementes em formação, a aquisição de tolerância à dessecação está associada à expressão de conjuntos específicos de RNAm. Transcritos codificando as proteínas LEA, provavelmente envolvidas na proteção dos tecidos contra a desidratação, podem ser precocemente induzidos nos embriões em cultura por meio do tratamento com ABA exógeno. De forma condizente, mutantes de *Arabidopsis* insensíveis ao ABA (*abi3*, *abi4*, *abi5*) apresentam uma menor expressão de certas proteínas LEA. A síntese dessas proteínas LEA é fortemente

controlada pela interação de fatores de transcrição, sendo promovida, por exemplo, pelo FUS3 e pelo LEC1.

Além da sua função na embriogênese e maturação da semente, o ABA é considerado importante para induzir a dormência. A dormência primária, induzida por ABA, é imposta à semente ainda conectada à planta-mãe. A imposição de dormência pode estar relacionada com o conteúdo endógeno de ABA e também com a sensibilidade da semente ao hormônio. A manutenção da dormência nem sempre é dependente da presença do hormônio, pois, durante a maturação, os teores de ABA reduzem-se a valores baixos ou mesmo nulos. Entretanto, em algumas plantas, o teor desse hormônio se mantém elevado, inclusive na semente madura. Em *Arabidopsis*, por exemplo, o ABA inibe a germinação, e os mutantes insensíveis ao hormônio (*abi1* a *abi5*) não apresentam dormência, sendo capazes de germinar mesmo na presença de 3 a 10 μM de ABA.

Nas sementes de cereais, enquanto as giberelinas exercem um efeito promotor na germinação, o ABA atua no sentido oposto, inibindo a síntese de enzimas hidrolíticas, especialmente de alfa-amilase na camada de aleurona. Recentemente, verificou-se que o ABA inibe a expressão do GA-MYB, o qual constitui um importante fator de transcrição que controla a expressão da alfa-amilase induzida pelas giberelinas (ver Capítulo 11).

Informações adicionais sobre as bases genéticas da formação da semente e do processo de germinação podem ser encontradas em Kermode (2005), Zhang (2014) e Nonogaki (2017).

Dormência das gemas

A inibição do crescimento vegetativo provocada pelo ácido abscísico compreende um dos efeitos mais comuns desse hormônio. Em plantas lenhosas de regiões temperadas, o nível de ABA geralmente se eleva em resposta às condições de dias curtos, quando o crescimento é reduzido e a dormência das gemas é imposta. As folhas são as responsáveis pela percepção do estímulo ambiental, sintetizando o ABA, que é transportado para as gemas, onde provoca a dormência.

A aplicação de ABA em gemas não dormentes também pode induzir a dormência. Entretanto, em algumas espécies, o transporte de ABA no início da dormência é baixo, e nem sempre condições de dias curtos causam aumento do ABA endógeno nas gemas.

Senescência

A participação do ácido abscísico na senescência ainda não está bem estabelecida, especialmente no que tange à interação desse fitormônio com outras classes hormonais, como as citocininas e o etileno. Enquanto alguns resultados indicam um efeito promotor do ABA na senescência, outros não apresentam correlação direta entre o hormônio e esse processo. Essas controvérsias podem resultar do balanço variável entre substâncias promotoras e inibitórias da senescência nos tecidos, em diferentes estágios de desenvolvimento. Por exemplo, apesar de o teor de ABA ser maior em folhas jovens, estas podem conter também concentrações mais elevadas de substâncias inibitórias da senescência.

Proteção contra lesões

Ferimentos causados por herbivoria ou lesão mecânica causam danos ao revestimento externo de proteção da planta, criando uma via de entrada para inúmeros patógenos. Em resposta aos ferimentos, o padrão de expressão gênica é substancialmente alterado, induzindo a síntese de grupos de proteínas envolvidas na cicatrização e na prevenção à invasão por patógenos. A resposta de defesa é sistêmica, pois, enquanto alguns genes são expressos localmente, outros são ativos em órgãos não danificados.

A família de genes inibidores de proteinases II (*pin2*) identificada em batata e tomate é um dos exemplos mais bem caracterizados de expressão gênica nas respostas aos ferimentos. Vários estudos indicam o envolvimento do ABA na indução da expressão dos genes *pin2*. Os mutantes *droopy* de batata e *sitiens* de tomate são deficientes em ABA e não apresentam acúmulo de RNAm dos genes *pin2*, observado apenas após tratamento com o hormônio, alcançando teores semelhantes aos verificados nas plantas selvagens submetidas a lesão.

Aplicações práticas

Muitas aplicações comerciais para os hormônios vegetais ou seus análogos sintéticos já foram encontradas, mas, no contexto da produção agrícola mundial, a contribuição desses compostos, em termos econômicos, permanece pequena. A auxina tem sido utilizada na propagação de plantas, no controle da expressão sexual e como herbicida seletivo; a giberelina, aplicada no processo de maltagem da cevada e no desenvolvimento de uvas; a citocinina, utilizada na manipulação do crescimento de plantas ornamentais e inibição da senescência, enquanto o etileno é utilizado no controle da produção de látex e modificação das características pós-coleta de frutos e flores. Entretanto, as aplicações do ácido abscísico parecem limitadas, até o momento, apesar do direcionamento de várias pesquisas.

O sucesso na utilização comercial da auxina se deve, provavelmente, à síntese de análogos com alta atividade biológica e boa estabilidade, tanto na planta quanto no ambiente. Por apresentar rápido metabolismo e fotodestruição, o ABA tem sua utilização como produto comercial ainda limitada. Como várias características da molécula do ABA são essenciais à sua atividade biológica, as possibilidades de produzir análogos

ativos são reduzidas. Entretanto, foram obtidos compostos análogos com um carbono adicional ligado à posição 8' da molécula do ABA. Esses compostos, o 8'-acetileno-ABA e o 8'-metileno-ABA (Figura 12.11), têm vida média mais longa e exercem efeitos semelhantes ao do ABA na proteção ao estresse, na dormência e na germinação de sementes. O 8'-metileno-ABA é mais ativo que o próprio ABA na inibição da germinação do agrião e do embrião isolado de trigo, na supressão do crescimento de células de milho em cultura e na redução da transpiração em plântulas de trigo.

A viabilidade do uso na agricultura dos compostos análogos ao ABA está sendo testada experimentalmente, tendo sido obtidos resultados satisfatórios na proteção de plantas de abóbora e tomate à baixa temperatura e disponibilidade reduzida de água no solo, e na manutenção da dormência de gemas em tubérculos armazenados de batata.

Experimentos realizados a partir da década de 1980 têm instigado pesquisas sobre o potencial biotecnológico da manipulação dos níveis endógenos do ABA como estratégia para aumentar a eficiência no uso da água pelas plantas sem comprometer o crescimento e a produtividade vegetal. Em um desses experimentos, parte das raízes de uma mesma planta de milho cresceu em um recipiente contendo solo com baixa disponibilidade hídrica, enquanto o restante das raízes cresceu em um recipiente contendo solo normalmente irrigado. Verificou-se que as plantas crescidas sob tais condições apresentavam uma redução na abertura estomática e, conseqüentemente, uma redução na perda de água por transpiração, sem que isso compromettesse as taxas de crescimento. Desde então, um número crescente de pesquisas tem buscado regular os níveis endógenos ou a sinalização do ABA por meio da geração de plantas transgênicas com alterações em componentes-chave das rotas de biossíntese, percepção e transdução de sinal desse hormônio. Muitas dessas pesquisas resultaram em alterações consideráveis em atributos agronomicamente relevantes, como tolerância à seca ou ao frio, germinação das sementes, crescimento vegetativo e senescência, tanto em espécies-modelo como *Arabidopsis*, quanto em espécies cultivadas como arroz, milho, trigo, soja, entre outras. Embora esses resultados ainda não possam ser extrapolados para condições de campo, acredita-se que o futuro seja promissor.

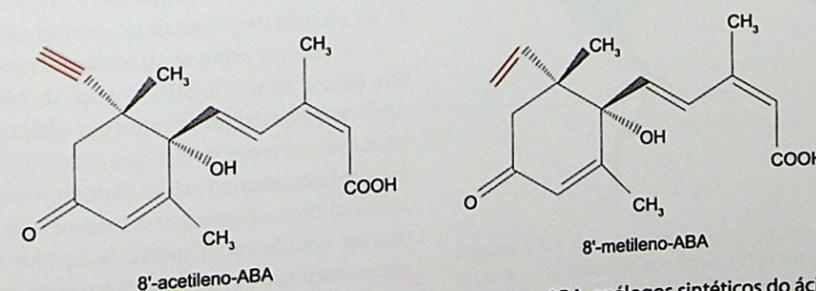


Figura 12.11 Estrutura química do 8'-acetileno-ABA e do 8'-metileno-ABA, análogos sintéticos do ácido abscísico.

Referências bibliográficas

- Addicott FT, editor. Abscisic acid. New York: Praeger; 1983.
- Davies WJ, Jones HG. Abscisic acid physiology and biochemistry. Oxford: Bios Scientific; 1991. (Environmental Plant Biology Series.)
- Finkelstein R, Gampala S, Rock C. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*. 2002;14:S15-45.
- Humplik JF, Bergougnoux V, van Volkenburgh E. To stimulate or inhibit? That is the question for the function of abscisic acid. *Trends Plant Sci*. 2017;22:830-41.
- Kermode AR. Role of abscisic acid in seed dormancy. *J Plant Growth Regul*. 2005;24:319-44.
- Kim TH. Mechanism of ABA signal transduction: agricultural highlights for improving drought tolerance. *J Plant Biol*. 2014;57:1-8.
- Nonogaki H. Seed biology updates – highlights and new discoveries in seed dormancy and germination research. *Front Plant Sci*. 2017;8:524.
- Taylor IB. Genetics of ABA synthesis. In: Davies WJ, Jones HG, editors. Abscisic acid physiology and biochemistry. Oxford: Bios Scientific; 1991. p. 23-37. (Environmental Plant Biology Series.)
- Thomas TL, Chung H-J, Nunberg NA. ABA signaling in plant development and growth. In: Aducci P, editor. Signal transduction in plants. Berlin: Birkhäuser; 1997. p. 23-43.
- Wright STC, Hiron RWP. [1]-Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature*. 1969;224:719-20.
- Zhang D-P. Abscisic acid: metabolism, transport and signaling. Dordrecht: Springer; 2014. p. 365-84.

Bibliografia

- Boursiac Y, Leran S, Corratgé-Faillie C, Gojon A, Krouk G, Lacombe B. ABA transport and transporters. *Trends Plant Sci*. 2013;18:325-33.

- Cunningham Jr FX, Gantt E. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1998;49:557-83.
- Cutler AJ, Krochko JE. Formation and breakdown of ABA. *Trends in Plant Science*. 1999;4:472-8.
- Davies PJ. Plant hormones physiology, biochemistry and molecular biology. Dordrecht: Kluwer; 1995. 833 p.
- Davies WJ, Jeffcoat B, editors. Importance of root to shoot communication in the responses to environmental stress. Bristol: British Society for Plant Growth Regulation; 1990. (Monograph n° 21.)
- Davies WJ, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Ann Rev Plant Physiol Mol Biol*. 1991;42:55-76.
- Dong T, Park Y, Hwang I. Abscisic acid: biosynthesis, inactivation, homeostasis and signalling. *Essays Biochem*. 2015;58:29-48.
- Finkelstein R. Abscisic acid synthesis and response. *The Arabidopsis Book*. 2013;11:e0166.
- Jones AM. A new look at stress: abscisic acid patterns and dynamics at high-resolution. *New Phytol*. 2015;21:38-44.
- Lichtenthaler HK. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1999;50:47-65.
- Liotenberg S, North H, Marion-Poll A. Molecular biology and regulation of abscisic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiol Biochem*. 1999;37:341-50.
- Milborrow BV. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *J Exp Bot*. 2001;52:1145-64.
- Sah SK, Reddy KR, Li J. Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Front Plant Sci*. 2016;7:571.
- Seo M, Koshiha T. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci*. 2002;7:41-8.
- Taylor IB, Burbidge A, Thompson AJ. Control of Abscisic acid synthesis. *J Exp Bot*. 2000;52:1563-74.