

Coordenação temporal da degradação das reservas dos cotilédones de jatobá (*Himenaëa courbaril* L.)

Temporal coordination of degradation of jatobá's cotyledons reserves (*Himenaëa courbaril* L.)

Ivan Santos Salles* e Marcos Silveira Buckeridge

Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo

*Contato do autor: ivanss7@gmail.com

Resumo. A germinação das plantas é uma fase delicada do desenvolvimento. O uso correto das reservas nutricionais pode definir o estabelecimento ou a morte das plântulas. Neste trabalho apontamos as principais particularidades da germinação do jatobá, apresentando os pontos de controle metabólicos já conhecidos e discutindo possibilidades futuras na área, tendo como foco a coordenação temporal deste processo.

Palavras-chave. Cronobiologia, fotossíntese, metabolismo de reservas, relógio endógeno.

Abstract. The plant germination is a delicate phase of the development. The correct use of the nutritional reserves could define seedling or death. In this work we highlight the main particularities of jatobá germination, presenting the already known metabolic control points and discussing the future perspectives in the field, focusing the temporal coordination involved in this process.

Keywords. Chronobiology, endogenous clock, photosynthesis, reserve metabolism.

Recebido 18out10

Aceito 21ago12

Publicado 27dez12

Cotilédones e Reserva

Os cotilédones são órgãos que evoluíram de folhas, sendo assim, podemos considerá-los folhas modificadas com a função de armazenamento. Os nutrientes reservados nos cotilédones auxiliam a germinação e o desenvolvimento da planta até o estabelecimento da fotossíntese (Taiz e col., 2006).

Os cotilédones do jatobá (*Himenaëa courbaril* L.) apresentam características interessantes com relação ao armazenamento e liberação das reservas. Diferentemente da maioria das plantas, os principais componentes das reservas de jatobá são polissacarídeos constituintes da parede celular, primordialmente xiloglucanos (hemiceluloses) (Buckeridge e col., 2000), depositados entre duas camadas de parede celular primária (Santos e Buckeridge, 2004; Buckeridge e col., 2008).

As hemiceluloses são formadas por uma cadeia central de polímeros de açúcar e apresentam ramificações laterais variadas. Esta conformação faz com que o conjunto hemicelulose seja de difícil degradação, exigindo um grande número de enzimas atuando em série (Tiné e col., 2000).

A maior complexidade deste metabolismo, apesar de mais dispendioso energeticamente, representa uma

vantagem para o organismo por dificultar a predação. Isso porque, o predador deverá apresentar todas as enzimas envolvidas na degradação destes polímeros. Podemos inferir, portanto, que exista um número reduzido de organismos que se alimentem de sementes de jatobá (Buckeridge e col., 2008).

Regulação Enzimática

O complexo metabolismo, apesar de representar uma vantagem contra predação, necessita de uma intrincada rede de coordenação para a correta liberação das reservas. O conhecimento sobre os pontos de controle desse processo ainda é fragmentado, mas já nos permite vislumbrar alguns efetores envolvidos e inferir a forma geral desta rede. Sabemos que nela estão envolvidos diversos sinais, endógenos e exógenos (Brandão e col., 2009), como sinalização hormonal (Santos e col., 2004), regulação por açúcar (Tiné e col., 2000), regulação por luz (Santos e Buckeridge, 2004) e coordenação temporal pelo relógio endógeno (Lumsden e Millar, 1998; Amaral, 2005).

Santos e colaboradores (2004) demonstraram que a presença de auxina gera um aumento na atividade enzimática do metabolismo de reservas. O mecanismo por eles proposto, para explicar tal fenômeno, baseia-se em

alterações de pH induzidas pela auxina na matriz extra celular. As enzimas que desmontam o xiloglucano (polímeros de açúcares constituintes de parede com função de reserva em cotilédones) apresentam atividade máxima em pH ácido. Como a auxina ativa o transporte de prótons para a região da parede celular, ela também aumentaria a degradação das reservas. Isso porque a atividade das enzimas seria aumentada pela diminuição do pH (Tiné e col., 2000; Taiz e col., 2006). No entanto, a produção de auxina é regulada pela luz (Taiz e col., 2006). No contexto atual, sabemos que a luz e os açúcares livres são particularmente importantes na coordenação da mobilização das reservas. No jatobá, grande parte desta importância é devida ao fato de o estabelecimento da fotossíntese se dar antes do término das reservas dos cotilédones. Com isso, passa a existir uma fase em que as plantas dispõem de duas fontes de carbono; uma devida à fotossíntese e outra, à reserva dos cotilédones (Santos e Buckeridge, 2004).

Experimentos anteriores mostraram que existe uma aparente coordenação temporal entre a liberação dos açúcares dos cotilédones e a fotossíntese. Isso porque, tais eventos apresentam-se em antifase, com o pico da atividade enzimática nos cotilédones ocorrendo no meio da noite, o que evita a sobreposição com a fotossíntese (Amaral, 2005). Este fenômeno pode ser gerado pela própria fotossíntese, uma vez que a presença de açúcares livres atua como regulador negativo na mobilização das reservas (Tiné e col. 2000).

Caso a taxa de crescimento da planta ou do transporte dos açúcares para os drenos (locais com alta taxa de consumo de energia, como folhas em desenvolvimento) seja baixa em relação à liberação de açúcares, moléculas de açúcar ficarão acumuladas nos cotilédones, bloqueando a atividade enzimática e parando o processo de mobilização (Tiné e col., 2000).

A razão entre o consumo de açúcares dos drenos e a produção pelas fontes (locais de exportação de moléculas altamente energéticas), pode ser influenciada pela existência de mais de uma fonte ativa no sistema. Isto porque, a capacidade de consumo de açúcares dos drenos é limitada. Assim sendo, uma vez que a degradação de reservas e a fotossíntese estão concomitantemente ativas, a relação fonte/dreno é modificada para um patamar de produção maior que o consumo. O eventual acúmulo de açúcares livres no sistema bloqueia a degradação de reservas e pode diminuir a assimilação de carbono pela fotossíntese. Portanto, existe uma interdependência entre as fases de ativação das duas fontes (fotossíntese / metabolismo de reservas), as quais, dependendo da relação fonte/dreno, podem se tornar mutuamente excludentes.

Assim, uma vez que a luz ativa a cadeia fotossintética, bem como, induz a transcrição de diversos genes envolvidos com a fotossíntese (Bennett, 1983; Schürmann e Jacquot, 2000), podemos supor que o ciclo claro/escuro exerça um controle direto sobre o controle da ativação dos órgãos fonte. Por outro lado, sabemos que tanto a fotossíntese quanto a concentração de auxinas são controladas pelo relógio biológico. Neste sentido, a degradação das reservas dos cotilédones seria controlada, no mínimo

indiretamente, pelo relógio endógeno (Lumsden e Millar, 1998; Covington e Harmer, 2007).

O Relógio Endógeno e as Reservas

A grande questão é saber se o próprio metabolismo de degradação das reservas é controlado diretamente por um oscilador endógeno (ver revisão sobre cronobiologia vegetal publicada nesta mesma edição da Revista da Biologia). Alternativas possíveis são: 1. o processo oscila circadianamente e 2. a relação de antifase, descrita anteriormente, seria gerada diretamente pelas concentrações de auxina e de açúcar.

Como estamos discutindo a situação em plântulas, primeiramente é necessário demonstrar que a própria maquinaria de marcação temporal endógena encontra-se estabelecida e funcional.

Um estudo de 2008, com *Arabidopsis* (Salomé e col., 2008), mostrou a presença de um oscilador funcional em plântulas. Neste trabalho foi demonstrado que o relógio biológico passa a funcionar momentos após a embebição da semente. Assim sendo, o controle temporal da relação entre a fotossíntese e a degradação das reservas dos cotilédones de jatobá poderia ser coordenado circadianamente.

No entanto, era impossível transpor os resultados para o caso do jatobá por ser *Arabidopsis* uma planta herbácea. Assim, fez-se necessário demonstrar que o relógio biológico do jatobá se comportaria de forma semelhante ao de *Arabidopsis*, ou ao menos, que este já estaria funcional no momento do estabelecimento da fotossíntese.

Para tal, acompanhamos durante três dias o ritmo de assimilação de carbono das plântulas logo após a expansão total das primeiras folhas (uma garantia de que estas já estavam atuando como fontes). Observamos então, um ritmo evidente de assimilação de CO₂ (com pico próximo ao meio da fase de claro) quando as plantas encontravam-se em condição de 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Em seguida, as plantas foram mantidas, por três dias, em condições constantes, para garantir que o ritmo anteriormente detectado não teria sido gerado como resposta direta ao ciclo claro/escuro ambiental. Assim, verificamos que, tanto em claro constante, como em uma condição de penumbra constante, o ritmo se mantinha, o que representa uma forte indicação da existência de um oscilador funcional em plântulas de jatobá.

A partir destes resultados, podemos tentar esclarecer se a degradação das reservas é controlada diretamente pelo relógio endógeno ou indiretamente através do controle temporal exercido sobre os outros agentes sinalizadores, como auxina e fotossíntese. Com este objetivo, utilizaremos a atividade de enzimas chave no controle do metabolismo de reservas, como indicativo de sua degradação. Caso observemos um ritmo nas atividades enzimáticas em condições constantes, teremos uma indicação de que o processo apresenta controle temporal endógeno. Mas esta situação levaria a outra pergunta: um único oscilador controlaria a fotossíntese e a degradação de reservas?

Registrando os períodos dos ritmos da fotossíntese

e da atividade enzimática poderíamos inferir se ambos os processos são controlados por osciladores diferentes. Isto porque, caso existam dois osciladores no sistema, cada um deles apresentará um período distinto, em condições constantes (Lumsden e Millar, 1998; Harmer, 2009). Em outras palavras, caso os períodos dos ritmos de fotossíntese e das atividades enzimáticas sejam diferentes teremos evidenciado dois osciladores independentes. Por outro lado, caso apenas um período seja detectado, não será possível determinar se a degradação de reservas é realmente controlada diretamente pelo relógio, uma vez que esta poderia ser uma mera resposta ao padrão de oscilação da fotossíntese ou apenas resultado de um equilíbrio químico entre as enzimas de degradação.

Para solucionar tal problema poderemos lançar mão de outra propriedade dos osciladores biológicos, cujos períodos apresentam compensação a variações da temperatura ambiente (Bruce e Pittendrigh, 1956; Lumsden e Millar, 1998). Assim, se variarmos a temperatura (geralmente de 5 a 10 °C), o período do ritmo de assimilação de CO₂ não deverá sofrer grandes alterações, enquanto a atividade enzimática, caso não seja controlada diretamente pelo oscilador, variará de acordo com as mudanças de temperatura, o que nos indicará a natureza do controle da degradação das reservas.

Muito provavelmente, este conjunto de resultados nos indicará uma rede de sinalização dependente de coordenação temporal endógena. Caso tal cenário se mostre verdadeiro, será possível indicar a sinalização gerada pela luz, açúcares e hormônios, como controladores finos de um processo mais amplo, o controle circadiano da degradação das reservas.

Referências bibliográficas

- Amaral, VLI, 2005 Metabolismo de Carboidratos Estruturais e de Reserva em Cotilédones de *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bennett J 1983 Regulation of photosynthesis by reversible phosphorylation of the light harvesting chlorophyll a/b protein. *Biochemical Journal* 212, 1-13
- Brandão AD, Del Bem LEV, Vincentz M e Buckeridge MS 2009 Expression pattern of four storage xyloglucan mobilisation related genes during seedling development of the rain forest tree *Hymenaea courbaril* L. *Journal of Experimental Botany* 60(4): 1191-1206
- Bruce VG e Pittendrigh CS, 1956 Temperature independence in a unicellular "clock". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* vol.42:676-682
- Buckeridge MS, Santos HP, Tiné MAS 2000 Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 38 (1/2): 141-156
- Buckeridge MS, Cavalari AA, Silva, GB 2008 Parede Celular. In: *Fisiologia Vegetal*, Gilberto B. Kerbauy (Ed.). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro Cap. 9: 165-181.
- Covington MF, Harmer SL 2007 The circadian clock regulates auxin signaling and responses in *Arabidopsis*. *PLoS Biology* 5(8): e222
- Harmer SL 2009 The Circadian System in Higher Plants. *Annual Review of Plant Biology* v.60: 357-377.
- Lumsden PJ e Millar AJ 1998 *Biological Rhythms and Photoperiodism in Plants*. Ed. BIOS Scientific Publishers

- Limited, UK.
- Salome, PA, Xie, Q., McClung, RC, 2008 Circadian Timekeeping during Early *Arabidopsis* Development. *Plant Physiology*, Vol. 147, pp. 1110-1125
- Santos HP, Buckeridge MS 2004 The role of the storage carbon of cotyledons in the establishment of seedlings of *Hymenaea courbaril* L. under different light conditions. *Annals of Botany* 94, 819-830.
- Santos HP, Purgatto E, Mercier H, Buckeridge MS 2004 The control of storage xyloglucan mobilisation in cotyledons of *Hymenaea courbaril* L. *Plant Physiology* 135, 287-299.
- Schürmann P e Jacquot JP 2000 Plant thioredoxin systems revisited. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology*. 2000. 51:371-400
- Taiz, L e Zeiger, E 2006 *Fisiologia Vegetal*. 3ed: Artmed: Porto Alegre, 2006.
- Tiné, MAS, Cortelazzo, AL & Buckeridge, MS 2000 Xyloglucan mobilisation in cotyledons of developing plantlets of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Plant Science* 154:117-126.