

MENSAGEIROS SECUNDÁRIOS RELACIONADOS À AÇÃO DOS HORMÔNIOS VEGETAIS

SECONDARY MESSENGERS RELATED TO THE ACTION OF PLANT HORMONES

Marielle Cascaes Inácio^{1*}; Edvar de Sousa da Silva²; Manoel Euzébio de Souza²; Elizabeth Orika Ono¹; João Domingos Rodrigues³.

RESUMO

Os conhecimentos atuais sobre os mecanismos de ação dos hormônios vegetais são ainda fragmentados e incompletos. No entanto, já se sabe que a ação reguladora e que o potencial de amplificação de sinais destas moléculas se dá através de vias de tradução de sinais iniciadas a partir da ligação dos hormônios aos seus receptores. A formação de mensageiros secundários de vida curta ocorre em função do início de uma cadeia de eventos resultante da ligação do hormônio vegetal ao seu receptor. Existem vários mensageiros secundários, mas cada hormônio, atuando num tipo celular específico, desencadeia o surgimento de mensageiros secundários também específicos. Estes mensageiros secundários incluem o 1,2-diacilglicerol, o inositol 1, 4,5-trifosfato e os íons cálcio, entre outros.

Palavras-chave: transdução de sinais; 1,2-diacilglicerol; inositol 1, 4,5-trifosfato, calmodulina, cálcio.

ABSTRACT

The current knowledge about the mechanisms of action of plant hormones is still fragmented and

incomplete. However, it's known that the regulatory action and that the potential of signal amplification of these molecules occurs through the process of translation of signals initiated from the binding of hormones to their receptors. The formation of short life secondary messengers occurs due to the start of a chain of events resulting from the binding of plant hormone to its receptor. There are several secondary messengers, but each hormone, acting in a specific cell type triggers the appearance of secondary messengers, also specific. These second messengers include 1,2-diacylglycerol, inositol 1,4,5-triphosphate and calcium ions, among others.

Key-words: signal transduction; 1,2-diacylglycerol; inositol 1,4,5-triphosphate, calmodulin, calcium.

INTRODUÇÃO

A ação reguladora e o potencial de amplificação de sinais de moléculas em plantas ocorrem através de vias de tradução de sinais iniciadas a partir da ligação dos hormônios vegetais aos seus receptores. A partir desta tradução, há início da transdução destes sinais, ou amplificação dos mesmos, pela síntese, acúmulo ou remoção dos chamados mensageiros secundários.

^{1*}Engenheira Agrônoma, Mestre em Agronomia (Horticultura), doutoranda do programa de pós-graduação em Agronomia (Horticultura). Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Rua José Barbosa de Barros, n 1780, CP 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: marycascaes@gmail.com. *Endereço pra correspondência.

²Licenciado em Ciências Agronômicas, Mestre em Agronomia (Horticultura), doutorando do programa de pós-graduação em Agronomia (Horticultura). Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Rua José Barbosa de Barros, n 1780, CP 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: edvardesousa@yahoo.com.br, manolrural@yahoo.com.br.

³Professores do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Distrito de Rubião Jr., s/nº, CP 510, CEP 18618-970, Botucatu, Brasil. E-mail: eono@ibb.unesp.br, mingo@ibb.unesp.br.

(Recebido para Publicação em 29/09/2011, Aprovado em 02/09/2012)

Inicialmente, no processo de tradução de sinais, os receptores mediam a percepção destes sinais ou mensageiros primários, sejam eles ataque de patógenos, estresse hídrico, entre outros. Com essa percepção há o desencadeamento de um mecanismo intracelular que ocasiona alterações no metabolismo da célula, como ativação de proteínas G, atividade de quinases e fosfatases e a produção de mensageiros secundários. Esses mensageiros secundários desempenharão o papel de converter sinais intracelulares ou extracelulares em respostas celulares propriamente ditas (WANG & IRVING, 2011), ou seja, comunicam o sinal do receptor, regulando uma ação enzimática específica ou atuando na expressão/repressão de genes (LEITE et al., 1997; ALMEIDA et al., 2003; MAZARO, 2007).

Porém, para que haja a amplificação de sinais pelos mensageiros secundários, a concentração das moléculas que apresentam esta função deve responder a sinais extracelulares, o que acarreta no aumento ou diminuição drástica e rápida destas moléculas no meio, seja pela síntese da molécula, pela sua degradação ou pela sua remoção para compartimentos celulares diversos (ALBERTS et al., 1994; d'AUZAC, 1994; CLAPHAM, 1995; LECKIE et al., 1998). Esses mensageiros secundários podem variar na composição química e dentre eles pode-se citar lipídeos, açúcares, íons, nucleotídeos ou gases, tais como cálcio (Ca^{+2}), adenosina 3', 5'-monofosfato cíclico (cAMP), guanosina monofosfato cíclico (cGMP), ADP-ribose cíclico (cADPR), GTPases (guanosina-5'-trifosfato), 1,2 diacilglicerol (DAG), inositol-1, 4,5-trifosfato (IP_3), óxido nítrico (NO), fosfolípidos de inositol (fosfoinositídeos) e ácido fosfatídico (PA) (WANG & IRVING, 2011).

Com isso, o presente trabalho teve por objetivo reunir dados sobre os principais mensageiros secundários relacionados à síntese e ação dos hormônios vegetais.

CÁLCIO

O Ca^{+2} participa da estrutura da célula e de vários processos fisiológicos nos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas. Sua atividade depende de sua concentração e localização na célula (TREWAVAS, 1999). Entretanto, uma das principais atividades do Ca^{+2} nas células vegetais é referente à via de transdução de sinais atuando como mensageiro secundário nas respostas das plantas para um número variado de sinais ambientais e hormonais (BETHKE et al., 1995).

A função do Ca^{+2} como mensageiro secundário está baseada nas concentrações muito baixas de Ca^{+2} livre no citosol (0,1 a 0,2 μM) e a alta concentração em outros compartimentos. Os íons Ca^{+2} ao mesmo tempo

em que são adequados para atuarem como sinalizadores ou mensageiros celulares são inadequados para servirem como elementos efetadores no metabolismo (BETHKE et al., 1995). Os autores ainda registram que para o íon tornar-se um potente elemento efetador na célula, deve ligar-se a proteínas de maneira que, com esta ligação, alterem sua conformação e possibilitem a modulação de processos de respostas bioquímicas e fisiológicas. Entre as proteínas mais comuns ligantes ao Ca^{+2} encontram-se a calmodulina (CaM) e as proteínas quinases dependentes de Ca^{+2} . Desse modo, há evidências de que o Ca^{+2} atua como um mensageiro secundário, na medida em que ele ativa a CaM.

- Ca^{+2} e os hormônios vegetais

Entre os hormônios vegetais, o ácido abscísico (ABA), as auxinas (Ax), as citocininas (Ck) e as giberelinas (GA) podem também atuar sobre canais de Ca^{+2} , aumentando a concentração de Ca^{+2} citosólico. A proteína quinase C (PKC) é ativada pelo Ca^{+2} , que também pode ativar outras quinases e ainda, combinar com a CaM, formando o complexo Ca^{+2} /CaM, que ativa várias enzimas entre as quais, outras quinases, NADquinase (diacilglicerol quinase) e ATPases (adenosina trifosfato fosforilase). As ATPases das membranas plasmáticas transferem o excesso de Ca^{+2} citosólico para fora da célula, armazenando parte dele no vacúolo. Com a liberação de hidrogênio (H^+) para a parede celular, que se acidifica, pode ocorrer também transporte de potássio (K^+) para dentro da célula, que será armazenado no vacúolo. A acidificação da parede celular ativa enzimas endo-trans-glicosilases que atuam nas microfibrilas de celulose da parede celular, rompendo e refazendo ligações, aumentando sua plasticidade, favorecendo o influxo de água e provocando o alongamento celular. O retículo endoplasmático e o complexo de Golgi podem sintetizar a β -glucan sintetase e vesículas contendo carboidratos, que participam diretamente da síntese da parede celular. Neste processo, o IP_3 , o DAG e Ca^{+2} funcionam como mensageiros secundários (ROSS & SALISBURY, 2012).

- Ca^{+2} e as auxinas (Ax)

As pesquisas relacionando os mensageiros secundários das Ax têm demonstrado que à aplicação destes reguladores aumentam os níveis de Ca^{+2} e também de fosfolipases (WANG & IRVING, 2011). Há um aumento de fosfolipase A2 após dois minutos de aplicação de Ax em células em suspensão. A ativação da fosfolipase A2, por sua vez, resulta na formação de lisofosfolípidios e ácidos graxos. Os lisofosfolípidios ativam a proteína quinase, a qual, fosforila várias proteínas como as ATPases. Assim, há aumento na atividade catalítica que resulta na acidificação da parede celular e consequente alongamento (KULAEVA & PROKOPTSEVA, 2004).

- Ca^{+2} e as giberelinas (GA)

A sinalização da GA envolve eventos dependentes e independentes de Ca^{+2} . Embora não atue na rota de transcrição do gene da α -amilase, o Ca^{+2} é importante na formação desta enzima, pois é uma metaloenzima que contém este elemento (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Após a percepção das GA, as primeiras respostas que ocorrem são o aumento de $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$ intracelular, seguido da redução do pH intracelular e elevação de outro mensageiro secundário, o GMPc (WANG & IRVING, 2011).

- Ca^{+2} e as citocininas (Ck)

O Ca^{+2} potencializa a ação das Ck na expansão de cotilédones e, por inibir a produção de etileno, retarda a senescência e abscisão foliar (HEPLER, 2005).

- Ca^{+2} e o ácido abscísico (ABA)

O ABA fecha os estômatos causando a despolarização da membrana plasmática das células-guarda. Acredita-se que essa despolarização seja causada por um aumento no Ca^{+2} citosólico, bem como pela alcalinização do citosol. O aumento no Ca^{+2} citosólico decorre da sua entrada no citosol e da sua liberação pelas reservas internas. Esse aumento conduz à abertura de canais de ânions, resultando na despolarização da membrana. O IP_3 , o IP_6 (inositol hexafosfato), cADPR, o PA e as espécies reativas de oxigênio (EROs), funcionam como mensageiros secundários nas células-guarda tratadas com o ABA, sendo que a proteína G faz parte destas respostas (HIRAYAMA & SHINOZAKI, 2007). A abertura dos canais de efluxo de K^+ em resposta à despolarização da membrana e à elevação do pH, promovem efluxo massivo de K^+ (TAIZ & ZEIGER, 2009). A ativação de canais de ânions na membrana plasmática de células-guarda tem sido considerada como um passo crítico no fechamento estomático (KIM et al., 2010).

A combinação do influxo de Ca^{+2} e a liberação desse íon das reservas internas elevam as concentrações citosólicas de 50 para 350 nM, podendo chegar a 1100 nM (DAVIES, 1995). Esse aumento é suficiente para causar o fechamento estomático.

Além disso, o ABA induz a formação de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) e outras EROs em células-guarda e estas ativam o influxo de Ca^{+2} e o consequente fechamento estomático (BHATTACHARJEE, 2005; HIRAYAMA & SHINOZAKI, 2007; KIM et al., 2010). A produção das EROs, tais como, H_2O_2 e NO que atuam no fechamento estomático depende de NADPH oxidases localizadas na membrana plasmática (HUBBARD et al., 2010).

Em geral, as respostas ao ABA parecem ser reguladas por mais de uma via de transdução de sinal, mesmo em um único tipo de célula. Essa redundância é coerente com a capacidade das células vegetais em

responderem a múltiplos estímulos sensoriais (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Ainda se tratando de células-guarda, estudos recentes demonstraram que uma enzima é responsável pelo aumento do Ca^{+2} citosólico em *Arabidopsis thaliana*: mirosinase. Esta enzima desempenha papel na sinalização do MeJA (metil jasmonato) e ABA nas células-guarda e na produção ou aumento de EROs e Ca^{+2} citosólico. O que os autores propõem é que os substratos e produtos destas enzimas podem interagir com os componentes dos canais de Ca^{+2} ativando-os e aumentando a concentração do Ca^{+2} citosólico (ISLAM et al., 2009).

- Ca^{+2} e o etileno (ET)

O Ca^{+2} pode influenciar na biossíntese de ET por atuar na atividade da enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintase (ACC sintase) (YANG & POOVAIAH, 2000), na transcrição (KWAK et al., 1997) e na atividade da 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidase (ACC oxidase) (GALLARDO et al., 1999; YANG & POOVAIAH, 2000). Além disso, a rota de sinalização do Ca^{+2} via complexo $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$, uma das rotas de sinalização melhor caracterizadas em células eucarióticas (BOUCHÉ et al., 2005), tem sido utilizada por vários autores para explicar a resposta das plantas frente a diversos tipos de estresses (TREWAVAS & MALHÓ, 1998; SANDERS et al., 2002).

Mais recentemente foi demonstrado que o Ca^{+2} desempenha papel de mensageiro secundário no processo de abscisão em tomate (XU et al., 2009). Em estudos realizados *in vitro* verificou-se que após 24 horas da aplicação de ET houve aumento no teor de Ca^{+2} livre nas regiões de abscisão. Além disso, a aplicação de Ca^{+2} aumentou a expressão de mRNA de genes que codificam enzimas hidrolases responsáveis pela degradação da parede celular. Como conclusão os autores afirmam que o complexo $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$ podem atuar como mensageiros secundários na abscisão induzida pelo ET.

O Ca^{+2} como mensageiro secundário do ET também foi elucidado em batata doce (CHEN et al., 2008). Neste caso, a resposta seria desencadeada a partir de um dano mecânico e da expressão do gene da ipomoelina (IPO) induzido por MeJA e H_2O_2 . Esta proteína está relacionada à defesa das plantas ao ataque de insetos. Os resultados demonstraram que o ET induz a elevação do Ca^{+2} citosólico que, por sua vez, estimula a proteína quinase (MAPKK) e, conseqüentemente, a expressão do gene IPO.

CALMODULINA (CaM)

A CaM ocorre sob forma livre no citosol ou como subunidade da glicogênio-fosforilase-quinase. É uma proteína pequena e com quatro sítios de ligação para o Ca^{+2} , a qual atua como mensageiro secundário

ativando e formando o complexo $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$. Quando esses sítios são ocupados, a CaM muda de conformação, podendo então se ligar há várias proteínas-alvo, alterando suas atividades de modo que a enzima passa a catalisar uma determinada etapa metabólica (HUBER & WILHELM, 1988; MARZZOCCO & TORRES, 2007).

Nos casos conhecidos de regulação de enzimas pelo complexo $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$ ocorre sempre à ativação de enzimas, como a glicogênio-fosforilase-quinase e proteína-quinase dependente de $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$.

$\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$ também desempenham função como mensageiros secundários em resposta a defesa da planta contra a herbivoria promovida pelo jasmonato (AJ) e ácido salicílico (AS) (QIU et al., 2012) em *Arabidopsis thaliana* mutante para proteínas AtSR1, que possivelmente desempenha um papel na regulação do AJ dependente das ações do AS na via de sinalização do ferimento. QIU et al. (2012) demonstram que esta família de proteínas são responsáveis pela integração de Ca^{+2} e CaM mediado pela ação de AS e AJ em resposta aos danos mecânicos. Os autores concluem que a ligação $\text{Ca}^{+2}/\text{CaM}$ é também necessária para o papel de AtSR1 na regulação da resistência das plantas ao ataque de insetos. Esses dados conferem com os obtidos por DU et al. (2009) em relação ao efeito do AS.

Não obstante, a CaM atua no fechamento estomático regulando o movimento dos estômatos por provocar uma cascata de eventos intracelulares sinalizadoras como a síntese/ativação das proteínas G heterotrimérica, H_2O_2 e aumento da concentração de Ca^{2+} (LI et al., 2009). Esses autores verificaram em *Arabidopsis thaliana* AtNOA1 (dependente da acumulação de óxido nítrico (NO)) que a CaM extracelular aumenta significativamente os níveis de NO em linhagens selvagens. Além disso, a CaM aumenta o conteúdo de Ca^{+2} através da promoção do influxo direto deste ou estimulando os canais de Ca^{+2} na membrana plasmática pelo acúmulo de H_2O_2 . Assim, ocorre uma cascata de sinalização que envolve a proteína G, H_2O_2 , NO e o Ca^{+2} que pode integrar tanto com o ABA quanto com a CaM extracelular para regular o movimento estomático.

INOSITOL 1, 4,5-TRIFOSFATO (IP_3)

A transdução de sinal dos receptores, no caso do IP_3 , se dá pela hidrólise do fosfatidil-inositol 4,5-bifosfato [$\text{PI} (4,5)\text{P}_2$] em seus mensageiros intermediários, o IP_3 e o DAG. O IP_3 mobiliza as reservas, levando ao aumento transitório de Ca^{+2} intracelular, enquanto o DAG estimula a fosfoquinase C (BEN-BARUCH et al., 1995), que será abordado posteriormente.

Em plantas, a partir de uma estimulação induzida por um agonista, ao nível do receptor na membrana, uma proteína G ativa a fosfolipase C (PLC), a qual catalisa a hidrólise da ligação fosfodiéster do $\text{PI} (4,5)\text{P}_2$, liberando no meio intracelular dois novos mensageiros secundários: o mioinositol 1,4,5 trifosfato [$\text{Ins} (1,4,5)\text{P}_3$] e o sn-1,2 diacilglicerol. Este evento desempenha uma sequência de reações denominada "cascata de fosfoinositídeos" que inicia após o sinal do receptor (ALMEIDA et al., 2003). De acordo com os mesmos autores o controle da hidrólise do $\text{PI}(4,5)\text{P}_2$ é agora reconhecido por ser um dos mecanismos essenciais na comunicação intercelular. Além de ser fonte de mensageiros secundários, o $\text{PI} (4,5)\text{P}_2$ é essencial na regulação de muitos processos, incluindo o transporte de íons e a atividade de certas enzimas (TOKER, 1998).

O IP_3 hidrossolúvel é acumulado rapidamente e temporariamente, desta maneira, liga-se a um receptor intracelular específico, resultando na mobilização do Ca^{2+} presente no retículo endoplasmático de um grande número de sistemas celulares diferentes e na liberação de Ca^{+2} dentro da célula (TREWAVAS & MAHLÓ, 1998; STEVENSON et al., 2000; ALMEIDA et al., 2003).

O término do sinal induzido pelo IP_3 ocorre pela sequência de defosforilação do mesmo para inositol livre, cuja hidrólise é catalisada por um grupo específico de inositol fosfatases (BERDY et al., 2001).

O IP_3 participa junto com outros mensageiros no controle de diversos processos fisiológicos, entre eles a resposta à luz azul e vermelha e o controle do fluxo de K^+ , para o movimento de estômatos. Durante a resposta ao estímulo externo, as concentrações de IP_3 são menores que 0,2 atomoles (10^{-8}mol) (VERHEY & LOMAX, 1993), e após a indução do processo, o IP_3 é rapidamente catabolizado (JAEGER & BOYER, 1990).

- IP_3 e o ácido abscísico (ABA)

Em se tratando de cascata de sinalização no caso de estresse em plantas, como abertura estomática regulada pelo ABA, além da concentração citoplasmática de Ca^{+2} , tem sido relatada a formação do IP_2 e IP_3 através da atuação da PLC (ZHU, 2002).

O IP_3 atua como mensageiro secundário sinalizando o ABA na regulação da função estomática e expressão de genes (GILROY et al., 1990). A expressão de um único de seis genes PLC de *Arabidopsis*, o AtPLC 1, é induzido pelo ABA (HIRAYAMA et al., 1995). Estudos nas linhas de expressão *antisense* de genes têm mostrado que AtPLC 1 é necessário, mas não suficiente, para o efeito do ABA na germinação, crescimento e expressão de genes vegetativos (SANCHEZ & CHUA, 2001). Muitos inositóis fosforilados também foram estudados e o IP_6 parece ativar o ABA, inibindo a

abertura estomática (LEMTIRI-CHLIEH et al., 2000). Outro estudo mostra que um defeito no metabolismo do fosfoinositol resulta na hipersensibilidade do ABA, acentuando o estresse abiótico e enfatizando o papel dos fosfoinositóis como mensageiros secundários (XIONG et al., 2001).

O papel do IP_3 no fechamento estomático relaciona-se a ativação de canais de Ca^{+2} no retículo endoplasmático e vacúolo o que leva a liberação de Ca^{+2} no citosol (HIRAYAMA & SHINOZAKI; 2007; WANG & IRVING, 2011).

Além disso, a microinjeção de IP_3 em estômatos inicia o fechamento, e o nível endógeno deste aumenta em dois minutos após a adição do ABA nos mesmos (GILROY et al., 1990; LEE et al., 1996).

- Relação entre IP_3 e gravitropismo

O IP_3 parece participar do início da sinalização das plantas à força de gravidade, início da resposta gravitropica regulada pelas Ax. Porém, no momento, a contribuição do fosfatidilinositol que sinaliza o percurso do gravitropismo em plantas, existe, mas não é bem compreendido (PERERA et al., 2006). No entanto, a gravidade estimula um rápido aumento de IP_3 em púlvinos de milho e que, mediante variações de turgescência, pode provocar movimentos nas folhas (PERERA et al., 1999).

DIACILGLICEROL (DAG)

Fosfolipídios são mais que componentes estruturais de membranas, podendo ser cofatores essenciais para enzimas de membranas, precursores de sinais ou moléculas sinalizadoras por si (MUNNIK, 2001). Em situação de estresse, o maior papel dos fosfolipídios deve ser como precursor para geração de moléculas mensageiras secundárias (KATAGIRI et al., 2001; XIONG et al., 2002). Trabalhos recentes têm mostrado a participação de fosfolipídios em vias de transdução de sinais em células vegetais, entre eles a PLC e em uma via mais recente no qual foi observada a presença do diacilglicerolpirofosfato (DGPP) e fosfatidilinositol 3,5-bifosfato [$PI(3,5)P_2$] (RAMOS et al., 2007).

A partir da cascata dos fosfoinositóis mencionada no item "Inositol 1, 4,5 trifosfato – IP_3 " formará também o sn-1,2 diacilglicerol, o qual fica na membrana plasmática e age ativando a proteína quinase C (PKC). Esta enzima estimula a fosforilação de numerosas proteínas intracelulares. A PKC tem sido usada para fosforilar canais iônicos e células animais; além disso, participa no processo de divisão celular. Uma das enzimas fosforiladas pela PKC é outra proteína quinase que regula a proliferação e a diferenciação das células, a MAP quinase. Apesar de ser comumente observada em células animais, a PKC

também tem sido detectada em plantas (ELLIOTT & KOKKE 1987; CHEN et al., 1996).

O estudo do DAG como mensageiro secundário em plantas é ainda escasso (PETERS et al., 2010). Mas foi verificado em *Arabidopsis thaliana* não específica para PLC (NPC4) que sob condições ideais de irrigação o DAG está envolvido na abertura estomática, mas sob estresse hídrico, o DAG produzido é convertido em PA e a cascata DAG quinase promove o crescimento da raiz nas plantas em resposta ao ABA sob déficit hídrico (PETERS et al., 2010).

ADENOSINA DIFOSFATO RIBOSE CÍCLICO (ribose cíclico do ADP - cADPR)

O cADPR participa da mobilização de Ca^{+2} nas plantas (ALLEN et al., 1995), assim como o IP_3 (GILROY et al., 1990). Existe um estudo que relata o envolvimento deste composto na via de transdução de sinal do ABA nuclear (WU et al., 1997).

LECKIE et al. (1998), estudando o fechamento estomático induzido pelo ABA e mediado pela cADPR, verificaram que microinjeções de cADPR dentro das células-guarda causaram reduções no turgor e isso precedeu o aumento da concentração de Ca^{+2} livre no citosol. Parte isolada do vacúolo das células-guarda revelaram a presença de cADPR e Ca^{+2} . Além disso, a microinjeção de cADPR antagonista 8-NH₂-cADPR reduziu a perda de turgor em resposta ao ABA em 54% das células avaliadas e um antagonista na produção de cADPR impediu o fechamento estomático induzido pelo ABA. Os resultados não somente mostram o cADPR induzindo o aumento na concentração de Ca^{+2} no citosol com consequente redução na abertura estomática, mas também, que este mensageiro secundário está intimamente envolvido no turgor promovido pelo ABA nas células-guardas. Estes dados estabelecem a função fisiológica para o cADPR na transdução de sinal nas células vegetais e fornece uma idéia dentro do mecanismo de controle da especificidade de Ca^{+2} na planta, baseado no sistema de transdução de sinal (LECKIE et al., 1998; BHATTACHARJEE, 2005).

Estudos relacionados à interação do ciclo circadiano ao conteúdo hormonal das plantas mostra que o cADPR pode funcionar como um mensageiro secundário do ABA em resposta ao frio proporcionado pela noite e pelo outono/inverno (ROBERTSON et al., 2009).

GUANOSINA MONOFOSFATO CÍCLICO (GMPc)

A GMPc regula canais iônicos (canais de sódio) e proteínas quinases em células animais, porém, parece ser também, uma importante molécula regulatória em

células vegetais. Moléculas de GMPc foram identificadas em extratos de plantas obtidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (JANISTYN, 1983; BROWN & NEWTON, 1992). No entanto, os níveis de GMPc são muito baixos em organismos vegetais (TAIZ & ZAIGER, 2009).

A GMPc tem sido identificada como mensageiro secundário em resposta aos fitocromos, GA e ABA (MEIER & GEHRING, 2006). Estudos demonstram que a GA provoca aumento transitório nos níveis de GMPc na camada de aleurona de sementes de cevada, sugerindo um possível papel da GMPc na produção de α -amilase (TAIZ & ZAIGER, 2009; WANG & IRVING, 2011).

A GMPc também parece estar envolvida na sinalização do ABA, Ax e AJ. Estudos realizados em células isoladas de raízes de *Arabidopsis thaliana* demonstraram que há aumento de GMPc quando da aplicação de 100 nM de ABA, 350 nM de AIA (ácido indolil-3-acético) e 1 nM de AJ (ISNER et al., 2012). Segundo esses autores, os dados sugerem que, quando medido em tempo real e no nível de uma única célula, a aplicação de ABA aumenta os níveis de cGMP.

CONCLUSÕES

É sabido que os mensageiros secundários desempenham papel fundamental no mecanismo de transdução de sinais referentes à ação dos hormônios vegetais. No entanto, pode-se inferir que estudos desta natureza ainda são escassos, provavelmente, devido à dificuldade de realizá-los e analisá-los, bem como, do tempo que estas pesquisas demandam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTS, B.D.; BRAY, D.; LEWIS, J. et al. **Molecular biology of the cell**. New York: Garland Science, 1994. 1294p.
- ALLEN, G.J.; MUIR, S.R.; SANDERS, D. Release of Ca^{2+} from individual plant vacuoles by both InsP3 and cyclic ADP-ribose. **Science**, New York, v.268, p.735–737, 1995.
- ALMEIDA, M.V.; SILVA, A.D.; SOUZA, M.V.N. et al. A cascata dos fosfoinosítídeos. **Química Nova**, São Paulo, v.26, n.1, p.105-111, 2003.
- BEN-BARUCH, A.; MICHIEL, D.F.; OPPENHEIM, J.J. Signals and receptors involved in recruitment of inflammatory cells. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v.270, p.11703-11706, 1995.
- BERDY, S.E.; KUDLA, J.; GRUISSEM, W. et al. Molecular characterization of At5PTase1, an inositol phosphatase capable of terminating inositol trisphosphate signaling. **Plant Physiology**, v. 126, p.801-810, 2001.
- BETHKE, P.C.; GILROY, S.; JONES, R.L. Calcium and plant hormone action. In: DAVIES, P.J. **Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology**. 2 ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. cap. 5. p.298-317.
- BHATTACHARJEE, S. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. **Current Science**, Bangalore, v.89, n.7, p.1113-1121, 2005.
- BOUCHÉ, N.; YELLIN, A.; SNEDDEN, W.A. et al. Plant-specific calmodulin-binding proteins. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.56, p.435-66, 2005.
- BROWN, E.G.; NEWTON, R.P. Analytical procedures for cyclic nucleotides and their associated enzymes in plant tissues. **Phytochemical Analysis**, Malden, v.3, n.1, p.1-13, 1992.
- CHEN, X.; XIAO, Z.A.; ZHANG, C.H. A preliminary study on plant protein kinase C. **Acta Phytophysiology Sinica**, v.22, n.4, p.437–440, 1996.
- CHEN, Y.; LIN, H.; JENG, S. Calcium influxes and mitogen-activated protein kinase kinase activation mediate ethylene inducing ipomoelin gene expression in sweet potato. **Plant, Cell & Environment**, v.31, n.1, p.62–72, 2008.
- CLAPHAM, D. Calcium signaling. **Cell**, Cambridge, v.80, p.259–268, 1995.
- COLLIER, G.F.; HUNTINGTON, V.C. The relationship between leaf growth, calcium accumulation and distribution, and tipburn development in field-grown butterhead lettuce. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.21, n.2, p.123-128, 1983.
- D'AUZAC, J. Le calcium un messenger dans la reponse des plantes aux stimuli. **Plantation Recherche et Développement**, v.1, n.1, p.22-27, 1994.
- DAVIES, P.J. **Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology**. 2 ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. cap. 5. p.298-317.

- DU, L.; ALI, G.S.; SIMONS, K.A. et al. Ca^{2+} /calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity. **Nature**, v. 457, p.1154-1158, 2009.
- ELLIOTT, D.C.; KOKKE, Y.S. Partial purification and properties of a protein kinase C type enzyme from plants. **Phytochemistry**, v.26, n.11, p.2929–2936, 1987.
- GALLARDO, M.; GÓMEZ-JIMÉNEZ, M.C.; MATILLA, A. Involvement of calcium in ACC-oxidase activity from *Cicer arietinum* seed embryonic axes. **Phytochemistry**, v.50, n.3, p.373-376, 1999.
- GILROY, S.; READ, N.D.; TREWAVAS, A.J. Elevation of cytoplasmic calcium by caged calcium or caged inositol triphosphate initiates stomatal closure. **Nature**, New York, v.346, n.23, p.769-771, 1990.
- HEPLER, P.K. Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. **The Plant Cell**, Rockville, v.17, p.2142-2155, 2005.
- HIRAYAMA, T.; OHTO, C.; MIZOGUCHI, T. et al. A gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C is induced by dehydration and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.92, n.9, p.3903–3907, 1995.
- HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. **Trends in Plant Science**, v.12, n.8, p.343-351, 2007.
- HUBBARD, K.E.; NISHIMURA, N.; HITOMI, K. et al. Early abscisic acid signal transduction mechanisms: newly discovered components and newly emerging questions. **Genes & Development**, v.24, p.1695-1708, 2010.
- HUBER, D.M.; WILHELM, N.S. The role of manganese in resistance to plant diseases. In: GRAHAM, R.D.; HANNAM, R.J.; UREN, N.C. **Manganese in soil and plants; an international symposium, glen Osmond**. Australian: Waite Agriculture Research Institute, 1988. p.155-173.
- ISLAM, M.M.; TANI, C.; WATANABE-SUGIMOTO, M. et al. Myrosinases, TGG1 and TGG2, redundantly function in ABA and MeJA signaling in *Arabidopsis* guard cells. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v.50, n.6, p.1171-1175, 2009.
- JAEGHER, G.; BOYER, N. On the role of membranes and calcium in signal perception and transduction in thigmomorphogenesis of *Bryonia dioica*. In: MILLET, B.; GREPPIN, H. **Intra-and intercellular communications in plants**. Paris: INRA. 1990. p.29-39.
- JANISTYN, B. Gas chromatographic-mass spectroscopic identification and quantification of cyclic guanosine-3':5'-monophosphate in maize seedlings (*Zea mays*). **Planta**, Berlin, v.159, n.4, p.382–385, 1983.
- KATAGIRI, T.; TAKAHASHI, S.; SHINOZAKI, K. Involvement of a novel *Arabidopsis* phospholipase D, AtPLDg, in dehydration-inducible accumulation of phosphatidic acid in stress signalling. **The plant Journal**, Michigan, v.26, p.595-605. 2001.
- KIM, T.H.; BÖHMER, M.; HU, H. et al. Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO_2 , and Ca^{2+} signaling. **Annual Review of Plant Physiology**, v.61, p.561-591, 2010.
- KULAEVA, O.N.; PROKOPTSEVA, O.S. Recent advances in the study of mechanisms of action of phytohormones. **Biochemistry**, Moscow, v.69, n. 3, p. 233-247, 2004.
- KWAK, J.M.; KIM, S.A.; LEE, S.K. et al. Insulin-induced maturation of *Xenopus* oocytes is inhibited by microinjection of a *Brassica napus* cDNA clone with high similarity to a mammalian receptor for activated protein kinase C. **Planta**, Berlin, v.201, n.3, p.245–251, 1997.
- LECKIE, C.P. MCAINSH, M.R.; ALLEN, G.J. et al. Abscisic acid-induced stomatal closure mediated by cyclic ADP-ribose. **The National Academy of Sciences**, Washington, v.95, n.26, p.15837–15842, 1998.
- LEE, Y.; CHOI, Y.B.; SUH, S. et al. Abscisic acid-induced phosphoinositide turnover in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. **Plant Physiology**, v.110, n.3, p.987-996, 1996.
- LEITE, B.; RONCATTO, L.D.B.; PASCHOLATI, S.F. et al. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.5, p.235-280, 1997.
- LEMTIRI-CHLIEH, F.; MACROBBIE, E.A.C.; BREARLEY, C.A. Inositol hexakisphosphate is a physiological signal regulating the inward rectifying

conductance in guard cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.97, p.8687–8692, 2000.

LI, J.; LIU, Y.; LÜ, P. et al. A signaling pathway linking nitric oxide production to heterotrimeric G protein and hydrogen peroxide regulates extracellular calmodulin induction of stomatal closure in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.150, n.1, p.114-124, 2009.

MARZZOCCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica básica**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 386p.

MAZARO, S. M. **Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. Curitiba, 2007. 105p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná.

MEIER, S.; GEHRING, C. Emerging roles in plant biotechnology for the second messenger cGMP - guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate. **African Journal of Biotechnology**, v.5, n.19, p.1687-1692, 2006.

MUNNIK, T. Phosphatidic acid: an emerging plant lipid second messenger. **Trends in Plant Science**, v.6, n.5, p.227-233, 2001.

PERERA, I.Y.; HEILMANN, I.; BOSS, W.F. Transient and sustained increases in inositol 1,4,5-triphosphate precede the differential growth response in gravistimulated maize pulvini. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.96, p.5838-5843, 1999.

PERERA, I.Y.; HUNG, C.; BRADY, S. et al. A universal role for inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated signaling in plant gravitropism. **Plant Physiology**, v.140, p.746-760, 2006.

PETERS, C.; LI, M.; NARASIMHAN, R. et al. Nonspecific phospholipase C NPC4 promotes responses to abscisic acid and tolerance to hyperosmotic stress in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v.22, n.8, p.2642-2659, 2010.

QIU, Y.; XI, J.; DU, L. et al. Coupling calcium/calmodulin-mediated signaling and herbivore-induced plant response through calmodulin-binding transcription factor AtSR1/CAMTA3. **Plant Molecular Biology**, v.79, p.89-99, 2012.

RAMOS, F.T.; ROSSIELLO, R.O.P.; LAMAS, M.E. et al. Fosfolípidios em membranas de raízes de arroz são alterados diferencialmente por estresse por

alumínio. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.2, p.117-119, 2007.

ROBERTSON, F.C.; SKEFFINGTON, A.W.; GARDNER, M.J. et al. Interactions between circadian and hormonal signalling in plants. **Plant Molecular Biology**, v.69, n.4, p.419-427, 2009.

ROSS, C.W.; SALISBURY, F.B. **Fisiologia das Plantas**. São Paulo: Cengage Learning, 2012. 774p.

SANCHEZ, J.P.; CHUA, N.H. *Arabidopsis* PLC1 is required for secondary responses to abscisic acid signals. **Plant Cell**, v.13, p.1143–1154, 2001.

SANDERS, D.; PELLOUX, J.; BROWNLEE, C. et al. Calcium at the crossroads of signaling. **Plant Cell**, v.14, p.S401-S417, 2002.

STEVENSON, J.M.; PERERA, I.Y.; HEILMANN, I. et al. Inositol signaling and plant growth. **Trends in Plant Science**, v.5, n.6, p.252-258, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4^o ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 819p.

TOKER, A. The synthesis and cellular role of phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate. **Current Opinion in Cell Biology**, v.10, n.2, p.254-261, 1998.

TREWAVAS, A. Le calcium, c'est la vie: Calcim makes waves. **Plant Physiology**, v.120, n.1, p.1-6, 1999.

TREWAVAS, A.J.; MALHÓ, R. Ca²⁺ signaling in plant cells: the big network! **Current Opinion in Plant Biology**, v.1, n.5, p.428-433, 1998.

VERHEY, S.T.; LOMAX, T.L. Signal transduction in vascular plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.12, n.4, p.179-195, 1993.

WANG, Y.H.; IRVING, H.R. Developing a model of plant hormone interactions. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v.6, n.4, p.494-500, 2011.

WU, Y.; KUZMA, J.; MARECHAL, E. et al. Abscisic acid signaling through cyclic ADP-ribose in plants. **Science**, New York, v.278, n.5346, p.2126–2130, 1997.

XIONG, L.; SCHUMAKER, K.S.; ZHU, J.K. Cell signaling during cold, drought and salt stress. **The plant Cell**, v.14, p.S165-S183, 2002.

XIONG, L.; LEE, B.H.; ISHITANI, M. et al. FIERY1 encoding an inositol polyphosphate 1-phosphatase is a

negative regulator of abscisic acid and stress signaling in *Arabidopsis*. **Genes & Development**, v.15, p.1971–1984, 2001.

XU, T.; LI, T.; QI, M. Calcium requirement for ethylene-induced abscission. **Journal of Plant Nutrition**, v.32, p.351–366, 2009.

YANG, T.; POOVAIAH, B.W. An early ethylene up-regulated gene encoding a calmodulin-binding protein involved in plant senescence and death. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v.275, n.49, p.38467-38473, 2000.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.53, p.247-273, 2002.