

INFLUÊNCIA DO ETILENO E DA H^+ -ATPase DURANTE O AMADURECIMENTO DE FRUTOS

Inga Gonçalves de Azevedo

Doutoranda em Biociências e Biotecnologia/Laboratório de Biologia Celular e Tecidual/UENF/RJ
ingagoncalves@yahoo.com.br

Clara-Luz da Aurora dos Santos

Mestre em Produção Vegetal/Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal/UENF/RJ
claraluzdaaurora@yahoo.com.br

RESUMO

O Brasil é o segundo produtor mundial de frutas (32 milhões de toneladas por ano), contribuindo com 10% da produção mundial. Apesar da importância brasileira na produção mundial de frutas, sua participação no mercado internacional, ainda, é baixa. Principalmente devido a dificuldades de transporte e perda pós-colheita. Estudos têm sido feitos para ampliar o conhecimento dos processos bioquímicos envolvidos no desenvolvimento de frutos com o objetivo de elucidar fatores passíveis de manipulação, controle ou interferência, possibilitando modificações que permitam estender a vida útil (tempo de prateleira) destes frutos. Um dos principais hormônios relacionados com amadurecimento e senescência de frutos é o etileno, um gás que afeta muitos processos durante o desenvolvimento vegetal, incluindo a germinação, a senescência de flores e folhas, a morte celular programada, e as respostas a estresses. O etileno tem sido o principal alvo de pesquisas na pós-colheita, por ser o principal hormônio regulador do amadurecimento de frutos. As bombas de prótons geram e mantêm um gradiente eletroquímico nas membranas celulares ativando o transporte secundário, produzindo a energia necessária para o transporte de diversos compostos orgânicos e íons inorgânicos. As H^+ -ATPases possuem um papel importante no controle do pH citoplasmático e do apoplasto, na ativação de enzimas líticas de parede celular e na integridade e funcionalidade da membrana, sendo essencial na regulação da homeostase celular durante o amadurecimento de frutos.

Palavras-chave: H^+ -ATPase, etileno, frutos climatéricos.

ABSTRACT

Brazil is the second largest producer of fruits (32 million tons/year), contributing with 10% of the world-wide production. Although the Brazilian importance in the world-wide production of fruits, its participation in the international market, still, is low. Mainly had the difficulties of transport and loss after harvest. Studies have been made to extend the knowledge of the processes involved biochemists in the fruits development with the objective to elucidate manipulation factors, control or interference, making possible modifications that allow to extend the useful life (shelf time) of these fruits. One of main hormones related with fruit ripening and senescence is the ethylene, a gas that affect many processes during the vegetal development, including the germination, flowers and leaves senescence, the programmed cellular death, and the stress responses. The ethylene has been the main target of research in the one after harvest, for being the main regulating hormone of the ripening fruits. The proton pumps generate and keep an electrochemical gradient in the cellular membranes activating of the secondary transport, through the formation of an electrochemical gradient they produce the energy required for the transport of several organic and inorganic ions. The H^+ -ATPases possess an important role in the control of pH cytoplasmic and apoplasto, in the enzyme activation of cellular wall and in the integrity and functionality of the membrane, being essential in the cellular regulation homostasis during the ripening fruits.

Key-words: H^+ -ATPase, ethylene, climateric fruit.

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios vegetais são moléculas sinalizadoras presentes em quantidades traço, cuja mudança na concentração e sensibilidade do tecido alvo pode influenciar uma gama de processos ligados ao desenvolvimento vegetal, muitos dos quais envolvem interações com fatores ambientais (Crozier et al., 2000). Um dos principais hormônios relacionados com amadurecimento e senescência de frutos é o etileno, um gás que afeta muitos processos durante o desenvolvimento vegetal, incluindo a germinação, a senescência de flores e folhas, a abscisão foliar, a morte celular programada, e as respostas a agentes estressores (Johnson e Ecker, 1998). A “tríplice resposta” de plântulas estioladas é um processo bem descrito, relacionado ao etileno caracterizado por inibição do hipocótilo e expansão das células da raiz, engrossamento radial do hipocótilo, e curvatura exagerada da região apical (Guo e Ecker, 2003).

O climatérico é um fenômeno crucial para o processo de amadurecimento dos frutos, tornando-se importante a caracterização de eventos associados a este fenômeno sejam caracterizados a fim de se identificar possíveis alvos moleculares para programas de melhoramento pós-colheita. O climatérico também se caracteriza por um aumento da taxa de respiração celular e outras alterações da bioenergética do fruto, incluindo mudanças drásticas de atividade das bombas de prótons presentes nas membranas celulares do fruto. Porém, os dados existentes na literatura sobre a regulação e papel das H⁺-ATPases no processo de maturação de frutos são controversos. Alguns trabalhos iniciais relataram ativações das H⁺-ATPases tipo P durante o amadurecimento de frutos (Lurie e Ben-Arie, 1983, Ben-Arie e Faust, 1980), enquanto efeitos inibitórios foram posteriormente relatados (Heyes e Townsend, 1992, Heyes et al., 1997). Em tomate, Amemiya et al. (2006), observou um decréscimo da expressão do gene LeVHA-AP1 que codifica a subunidade A da V-ATPase, nos primeiros estádios de maturação, seguido pelo aumento do mesmo no estágio maduro. Estes autores também mostraram que a supressão da V-ATPase reduz o crescimento do fruto e a formação das sementes.

Recentemente, descrevemos relações existentes entre a modulação da H⁺-ATPase de membrana plasmática e as oscilações de pH no fluido apoplástico, durante o climatérico e as fases posteriores de amadurecimento e senescência pós-colheita de frutos de mamão (Azevedo et al., 2008), demonstrando a importância da regulação etileno – bombas de prótons no processo de amadurecimento de frutos.

2. REVISÃO

2.1 Integração hormonal

As plantas contam com uma variedade de sinais químicos produzidos endogenamente, dentre estes algumas moléculas hormonais fundamentais para o seu desenvolvimento. Através do balanço entre síntese, transporte e degradação dessas moléculas determinado evento celular pode ocorrer ou ser inibido nos diversos órgãos vegetais em diferentes estádios do desenvolvimento. O uso de modelos genéticos com mutações hormonais e das técnicas de biologia molecular, somados aos experimentos clássicos de aplicação de hormônios, têm produzido uma série de resultados que ajudam a compreender o mecanismo de ação das diferentes classes hormonais. Para cada hormônio que possui uma via de transdução de sinal conhecida, modulações específicas da transcrição gênica têm sido associadas à respostas específicas no desenvolvimento vegetal (Woodward e Bartel, 2005). Apesar dos alvos moleculares da ação hormonal estarem sendo paulatinamente determinados, a especificidade e a concomitante redundância de efeitos promovidos pelos hormônios parece ser o grande enigma a ser desvendado (Gazzarrini e McCourt, 2003).

2.2 Emissão de Etileno do fruto

O etileno é um hormônio vegetal gasoso, produzido em todas as partes dos vegetais superiores. A taxa de produção de etileno depende do tipo de tecido e do estágio de desenvolvimento deste. A emissão deste fitormônio é expressiva durante a abscisão foliar e a senescência da flor, bem como, durante o amadurecimento dos frutos. O etileno tem sua expressão aumentada por ataque de patógenos e danos de origem física ou química (Abeles et al., 1992).

Este fitormônio modula diversos processos metabólicos envolvidos no amadurecimento de frutos, coordenando a expressão gênica que envolve o aumento da taxa respiratória, a degradação de clorofila e a síntese de carotenóides na casca do fruto, a interconversão de açúcares, o aumento na atividade de enzimas que degradam a parede celular e até mesmo a produção auto-catalítica de etileno (Gray et al., 1992).

2.3 Rota de biossíntese do etileno e ciclo de regeneração da metionina

A principal via para biossíntese de etileno tem como precursor central o aminoácido metionina, o qual é convertido a S-adenosil metionina (SAM); este por sua vez é convertido a ácido aminociclopropano carboxílico (ACC), que será convertido a etileno. As principais enzimas moduladoras desta rota são a SAM-sintetase, ACC-sintase (ACCS) e ACC-oxidase (ACCO) (Bleecker e Kende, 2000) (Figura 1).

O etileno pode exercer regulação por “feedback” positiva ou negativa em sua própria biossíntese, dependendo do tecido, órgão ou estágio de desenvolvimento (Yang, 1985). Com base na resposta à aplicação de etileno exógeno, dois diferentes padrões de produção de etileno têm sido observados (Oetiker e Yang, 1995). Segundo Barry et al. (2000), o sistema I de produção de etileno é encontrado em tecidos vegetativos, frutos não-climatéricos e frutos no estágio do pré-climatério onde a taxa de produção de etileno é baixa e inibida por etileno exógeno. O sistema II do etileno é produzido durante o amadurecimento de frutos climatéricos e senescência floral onde a taxa de produção de etileno é aumentada e pode ser estimulada por etileno exógeno.

O repentino aumento na produção de etileno na fase do amadurecimento é considerado como um controlador da iniciação das mudanças na cor, aroma, textura, sabor, e outros atributos fisiológicos e bioquímicos. Frutos não-climatéricos são considerados como possuidores de um processo de amadurecimento independente de etileno (Lelièvre et al., 1997).

De acordo com Cervantes (2002), os mecanismos para percepção de etileno são bem conservados em plantas, tendo origem anciã. Os receptores do etileno são proteínas de membrana, sendo relacionados a proteínas receptoras encontradas em algas, bactérias e plantas, que possuem sistemas regulatórios, os quais iniciam uma série de reações de fosforilação em respostas a estímulos externos.

O etileno possui diversos inibidores de sua atividade. Os ciclopropenos têm sido descritos como efetivos antagonistas da ação do etileno, os principais são Ciclopropeno (CP), 1-metilciclopropeno (1-MCP) e 3,3-dimetilciclopropeno (3,3-DMCP). Todos esses antagonistas estão na forma gasosa em temperatura ambiente, e não possuem odor forte característico nas concentrações utilizadas para tratamentos em vegetais. O 1-MCP é mais estável que o CP e mais ativo do que o 3,3-DMCP, devido a estas características é preferencialmente utilizado (Sisler e Serek, 1997).

O 1-MCP tem aparecido como uma importante ferramenta no controle da maturação, sendo utilizado para prolongar a vida de prateleira e a qualidade de produtos vegetais, tendo se mostrado como um avanço na agricultura comercial. Este produto também tem se mostrado como um forte aliado na pesquisa, contribuindo com avanços no entendimento da ação do etileno sobre as plantas (Blankenship e Dole, 2002).

A forma de ação deste inibidor consiste em ocupar o sítio receptor do etileno, não permitindo que este se ligue, impedindo desta forma sua ação. A afinidade do 1-MCP para o receptor do etileno é aproximadamente 10 vezes maior do que o próprio etileno. Desta forma o 1-MCP é ativo em concentrações muito menores do que o etileno (Sisler e Serek, 1997).

O 1-metilciclopropeno funciona como um antagonista irreversível deste hormônio vegetal, pois ao ligar-se ao receptor do hormônio não se desliga mais, impedindo consequentemente a ligação do etileno ao seu receptor. Enquanto 1-MCP estiver ligado ao receptor, o etileno não poderá se ligar, inutilizando este receptor (Sisler e Serek, 1997). Apesar desta ligação permanente aos receptores, ainda assim as plantas tratadas retornam à sensibilidade ao etileno devido à síntese de novos receptores (síntese “de novo”) que permitem a ligação do etileno (Blankenship e Dole, 2002).

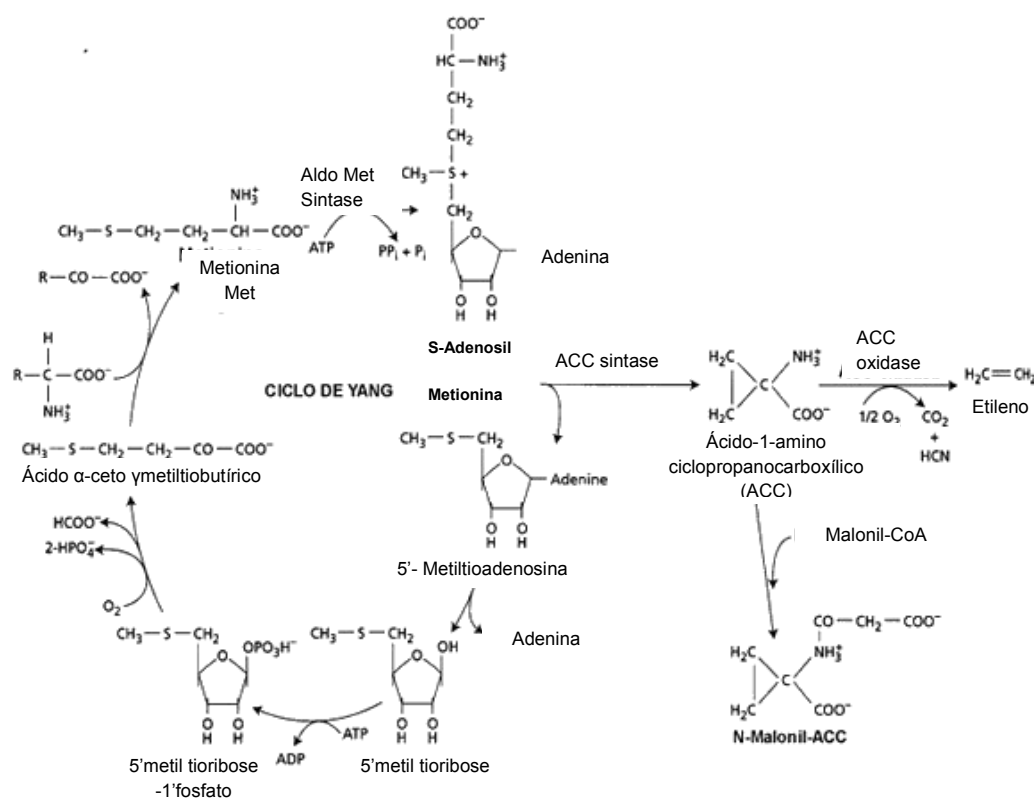


Figura 1 - Rota de biossíntese do etileno e o ciclo de regeneração da metionina. Adaptado de http://www.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.biologia.edu.ar/plantas/reguladores_vegetales_2005/images

2.4 O transporte de solutos através das membranas de células vegetais

O movimento de íons através das membranas biológicas (membrana plasmática, e de endomembranas de diferentes organelas celulares) é um processo altamente seletivo e fundamental na manutenção da energética celular (Harold, 1986). Este processo é desempenhado por estruturas protéicas localizadas nas membranas, que podem funcionar como proteínas canais, proteínas carreadoras (ou transportadoras) ou, ainda, como bombas eletrogênicas. Em resposta à ação destas macromoléculas, alguns compostos são acumulados na célula a concentrações mais elevadas que as encontradas no ambiente externo, enquanto outros são totalmente excluídos (Taiz e Zeiger, 2004).

Os sistemas de transporte presentes nas membranas biológicas, podem ser classificados em sistemas primários e secundários. Os sistemas primários são constituídos pelas bombas eletrogênicas. Estes são responsáveis pelo estabelecimento de um gradiente eletroquímico gerado ao transportar íons contra um gradiente de concentração, utilizando-se para isso de compostos ricos em energia (ATP ou PPi). Já os sistemas secundários, constituídos pelas proteínas canais e as carreadoras ou transportadoras, são capazes de transportar substratos através da membrana sem envolver quebra de ligações covalentes. Este processo depende do desequilíbrio de cargas gerado na membrana, pelos sistemas primários (Logan et al., 1997).

As proteínas canais enquanto no estado “aberto” se comportam como poros seletivos através dos quais é permitida a passagem de substratos específicos sem que ocorram alterações morfológicas na proteína. Várias classes de proteínas canais têm sido descritas nos sistemas vegetais, incluindo as específicas para K^+ , Ca^{++} e ânions. Nestas, o gradiente elétrico determinará a direção e extensão do fluxo passivo de íons (Sze et al., 1999). O controle da abertura e fechamento de certas proteínas canais dependentes de voltagem é diretamente dirigido pelo potencial de membrana, o qual por sua vez depende dos sistemas primários de transporte iônico.

Com relação às proteínas transportadoras, estas sofrem um ciclo de alterações morfológicas, que acompanham o percurso da molécula ou íon através das mesmas (Logan et al., 1997). O transporte mediado pelas proteínas canais e certas transportadoras, as “uniporters”, ocorre a favor do gradiente eletroquímico. Por outro lado, as co-transportadoras - “symporters” e “antiporters” - conseguem mover seus substratos tanto a favor quanto contra um gradiente de potencial elétrico, acoplando esse transporte ao de outro substrato que se movimenta a favor do gradiente, respectivamente. O funcionamento destes sistemas promove o aporte dos principais nutrientes necessários para o funcionamento da célula vegetal e a excreção de muitos íons tóxicos (Taiz e Zeiger, 2004). Mas para executarem essa missão estes sistemas secundários de transporte se utilizam do gradiente eletroquímico gerado pelos sistemas primários.

As adenosinas 5'-trifosfatases (ATPases) transportadoras de prótons são os principais sistemas primários de transporte iônico da célula vegetal, também denominadas bombas de prótons (H^+ -ATPases) por bombear íons H^+ contra um gradiente de concentração estabelecido através das membranas. Em última instância, essas enzimas são as principais responsáveis pela interconversão de energia química, elétrica e luminosa nas células de todos os organismos vivos. Em membranas de células vegetais, estas bombas acoplam a hidrólise de ATP ao transporte de prótons, gerando uma diferença de potencial eletroquímico, requerido para o transporte secundário, o qual é completamente dependente da força motriz de prótons (FPM). A quantificação da FPM pode ser usada para estimar a energia livre contida no potencial de prótons. Este potencial é criado, através da membrana, por um bombeamento de prótons executado pelas H^+ -ATPases e H^+ -PPases (Sanders e Bethke, 2000).

2.5 Enzimas de transporte nas membranas - H^+ -ATPases do tipo P

A H^+ -ATPase presente na membrana plasmática das plantas desempenha a função de transportar íons e moléculas por meio de transporte ativo, através de gradiente de pH e potencial elétrico. Esta enzima utiliza ATP como substrato para bombear prótons através da membrana plasmática para o apoplasto. Sendo constituída por uma única cadeia polipeptídica de aproximadamente 100 kDa, pode formar dímeros ou mesmo hexâmeros. O monômero tem 10 domínios transmembranares e uma alça hidrofílica contendo a região de ligação do ATP (Sze et al., 1999).

As ATPases tipo P são divididas em 5 grupos, baseando-se na seletividade dos íons que transportam. As P_1 -ATPases estão envolvidas no transporte de metais pesados como Cd^{2+} , Cu^{2+} e Hg^{2+} ; as P_2 -ATPases transportam vários cátions monovalentes e bivalentes incluindo, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+} ; as P_3 -ATPases transportam H^+ ; e as P_4 -ATPases foram identificadas em leveduras e provavelmente transportam aminofosfolipídeos (Catty et al., 1997). A ATPase Cta4, necessária para o controle da morfologia celular e da dinâmica dos microtúbulos em *Saccharomyces pombe* e a ATPase Cód1p/Spf1p de *Saccharomyces cerevisiae*, que estão localizadas no retículo endoplasmático, são classificadas como sendo as do tipo P_5 -ATPases (Catty et al., 1997; Cronin et al., 2002; Okorokova-Façanha et al., 2002).

As H^+ -ATPases formam um gradiente de pH e um potencial elétrico através da membrana. Com isso, exercem funções tais como, a acidificação da parede celular, induzindo a plasticidade da mesma e possibilitando a expansão celular. Também são essenciais na remoção de H^+ do citoplasma (Serrano, 1989). A alcalinização do citoplasma talvez seja um dos fatores disparadores da divisão celular (Serrano, 1989). Estas enzimas são reguladas pela concentração de substrato (ATP), pH e temperatura (Sze et al., 1999). A H^+ -ATPases também podem ser ativadas ou desativadas em resposta à luz, hormônios, ataque de patógenos, dentre outros (Dietz et al., 2001). Este tipo de regulação é mediado por um especializado domínio, auto-inibitório, da região C-terminal da cadeia polipeptídica o qual age como uma válvula regulando a atividade da bomba de prótons (Taiz e Zeiger, 2004). As ATPases de membrana plasmática são inibidas por ortovanadato ($H_2VO_4^-$) que compete com o fosfato (Sze et al., 1999) e por complexos de fluoreto de alumínio (Façanha e de Meis, 1995).

A H^+ -ATPase do tipo P pode ser encontrada em todos os tipos de células vegetais, em diferentes quantidades de acordo com o tecido. Em geral, os tecidos especializados para intensa atividade de transporte ativo e acúmulo de solutos são os mais abundantes nesta bomba. O floema, um tecido especializado para transporte de longa distância de uma grande parte de componentes orgânicos, contém grande concentração de H^+ -ATPases do tipo P (Palmgren, 2001). Zhao et al. (2000) verificaram que a H^+ -ATPase do tipo P é importante para o carregamento de sacarose e outros fotoassimilados no floema.

Praticamente todos os hormônios de plantas interagem com a bomba de prótons de membrana plasmática. A auxina ativa a enzima em células em crescimento, promovendo a elongação celular (Brummel e Hall, 1987). Peng et al. (2003) verificaram que o ácido abscísico ativou fortemente a H^+ -ATPase do tipo P em frutos de maçã. Foi visto para frutos de mamoeiro, que o pico de etileno parece sinalizar para uma diminuição na atividade da enzima (Azevedo et al., 2008). Heyes et al. (1997) verificaram que a bomba de prótons de membrana plasmática tinha sua atividade diminuída durante o início do amadurecimento e com posterior aumento na fase final, até a senescência, em pepino, sugerindo que esta bomba de prótons contribui para o amolecimento destes frutos através da diminuição do pH apoplástico. Domingos e Ruber (1998) também relatam variações no pH do apoplasto para frutos de tomateiro durante o processo de amadurecimento, eles sugerem que a diminuição no pH do apoplasto seja responsável pela degradação de polímeros e ativação de hidrólises alterando a textura do fruto.

As bombas de prótons têm sido relatadas por estarem envolvidas em diversos processos no amadurecimento de frutos. Afetando o transporte de açúcares e ácidos durante o amadurecimento de uva, a homeostase do pH e o transporte de solutos em células vegetais (Robinson e Davies, 2000; Zandonadi et al., 2007). Milner et al. (1995) verificaram um aumento na atividade das bombas de prótons de tonoplasto no início da maturidade de tomate. Este aumento foi seguido por uma redução na atividade destas enzimas. Já para frutos não climatéricos como uva, morango e maçã, a atividade das bombas de prótons parece aumentar com o processo de amadurecimento destes frutos (Terrier et al., 2001; Ben-Arie e Faust, 1980; Lurie et al., 1983).

As especulações acerca da atividade destas bombas durante o processo de maturação são inúmeras, vão desde a modulação por diversos hormônios até a ativação de enzimas e transporte de solutos. O trabalho efetuado por Azevedo et al. (2008) fornece evidências da participação da H^+ -ATPase do tipo P no processo de amadurecimento de frutos de mamoeiro e a possível modulação da atividade desta enzima pelo hormônio etileno durante o processo de amadurecimento. Recentemente Santos (2009) demonstrou que o hormônio etileno atua como um modulador negativo da H^+ -ATPase do tipo P durante o amadurecimento do mamão. A diminuição na atividade desta bomba sob influência do etileno durante o período do climatério é um indicativo que essa tenha uma participação efetiva no amadurecimento destes frutos. A conseqüente diminuição no aporte energético da membrana celular resultante da modulação da H^+ -ATPase de membrana plasmática evidencia uma forma de regulação do transporte secundário pelo etileno durante o amadurecimento, também podendo sinalizar mudanças metabólicas relacionadas ao processo de senescência destes frutos.

3. CONCLUSÃO

O processo de amadurecimento de frutos é uma importante etapa do desenvolvimento a ser investigado, seu balanço hormonal, como são orquestrados os sistemas de transporte, as atividades enzimáticas e como ocorre a interconexão entre estes diferentes elementos. A elucidação de mais uma etapa destes processos bioquímicos e fisiológicos do fruto é necessária para que ocorra um melhor entendimento sobre o amadurecimento e a fisiologia dos frutos após a colheita. Podendo ser a H^+ -ATPase um possível marcador bioquímico de senescência dos frutos climatéricos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELES, F.B.; MORGON, P.W.; SALTVEIT JR., M.E. Fruit ripening, abscission, and postharvest disorders. In: Abeles, F.B.; Morgon, P.W.; Saltveit Jr., M.E. (eds.) Ethylene in Plant Biology. 2nd edn. San Diego, Academic Press, p. 414, 1992.

AMEMIYA, T.; KANAYAMA, Y.; YAMAKI, S.; YAMADA, K.; SHIRATAKE, K. Fruit-specific V-ATPase suppression in antisense-transgenic tomato reduces fruit growth and seed formation. *Planta* 223: 1272–1280, 2006.

- AZEVEDO, I. G.; OLIVEIRA, J.G.; SILVA, M.G.; PEREIRA, T.; CORREIA, S.F.; VARGAS, H.; FAÇANHA, A. R. P-type H⁺-ATPases activity, membrane integrity, and apoplastic pH during papaya fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, v. 48, p. 242-247, 2008.
- BARRY, C.S.; LLOP-TOUS, M.I.; GRIERSON, D. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. *Plant Physiology*, v.123, n. 3, p. 979-986, 2000.
- BEN-ARIE, R., FAUST, M. ATPase in ripening strawberries. *Phytochemistry*. 19, 1631-1636, 1980.
- BLANKENSHIP, S.M.; DOLE, J. M. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology Technology*, v. 28, n. 1, p. 1-25, 2002.
- BLEECKER, A. A.; KENDE, H. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annu Rev Cell Dev Biol* 16: 1-18, 2000,
- BRUMMEL, D.A.; HALL, J.L. Rapid cellular response to auxin and the regulation of growth. *Plant Cell Environment*, v. 10, n. 7, p. 523-543, 1987.
- CATTY P.; DEXAERDE A.D.; GOFFEAU A. The complete inventory of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* P-type transport ATPases *Febs Letters* 409: 325-332, 1997.
- CERVANTES, E. Ethylene: new interactions, still ripening. *Trends in plant science*, v. 7, n. 8, p. 334-335, 2002.
- CRONIN, S.R.; RAJINI, R.; HAMPTON, R.Y. Cod 1p/Spf1p is a P-type ATPase involved in ER function and Ca²⁺ homeostasis. *Journal of Cell Biology*, 157: 1017-1028, 2002.
- CROZIER, A., KAMIYA Y., BISHOP, G, YOKOTA, T. Biosynthesis of Hormones and Elicitor Molecules. *In: Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (eds.) Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, p. 850-929, 2000.
- DIETZ K.J.; TAVAKOLI N.; KLUGE C.; MIMURA T.; SHARMA S.S.; HARRIS G.C.; CHARDONNENS A.N.; GOLLDACK D. Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level *Journal of Experimental Botany* 363: 1969-1980, 2001.
- DOMINGOS, P.F.A.; HUBER, D. J. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: a potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. *Physiology Plantarum*, v.105, n. 3, p. 506-512, 1999.
- FAÇANHA, A. R.; DE MEIS; L. Inhibition of maize root H⁺-ATPase by fluoride and fluoroaluminate complexes. *Plant Physiology* 108: 241, 1995.
- GAZZARRINI, S.; MACCOURT, P. Cross-talk in plant hormone signalling: what Arabidopsis mutants are telling us. *Ann. Bot. (London)*. 91, 605-12, 2003.
- GRAY, J.; PICTON, S.; SHABEER, J.; SCHUCH, W.; GRIERSON, D. Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. *Plant Molecular Biology*, v. 19, n. 1, p 69-87, 1992.
- GUO H.; ECKER J.R. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF(EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell* 115: 667-677, 2003.
- HAROLD, F.M. The vital force. A study of bioenergetics. *New York. Freeman* 1986.

- HEYES, J.A., SEALEY, D.F., DE VRE, L.A. Plasma membrane ATPase activity during pepino (*Solanum muricatum*) ripening. *Physiol. Plant.* 101, 570-576, 1997.
- HEYES, J.A., TOWNSEND, J.A. ATPase activity of mesocarp membranes during postharvest ripening of nectarines. *New Zealand J. Crop Hort. Sci.* 20, 125-131, 1992.
- SOBERÓN J. R., QUIROGA E. N., SAMPIETRO A. R., VATTUONE M. A. Etileno. http://www.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.biologia.edu.ar/plantas/reguladores_vegetales_2005/images [capturado dia 24 de abril de 2011].
- JOHNSON P.R.; ECKER J.R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. 32: 227-254, 1998.
- LELIÈVRE, J. M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J. C. Ethylene and fruit ripening. *Physiology Plantarum*, v.101, n. 4, p. 727-739, 1997.
- LOGAN, H.; BASSET, M.; VERY, A. A.; SETENAC, H. Plasma membrane transport systems in higher plants: From black boxes to molecular physiology. *Plant Physiology* 100: 1, 1997.
- LURIE, S., BEN-ARIE, R. Characterization of plasmalemma ATPase from apple fruit. *Phytochem.* 22, 49-52, 1983.
- MILNER, I.D.; HO, L.C.; HALL, J.L. Properties of próton and sugar transport at the tonoplast of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruit. *Physiologia Plantarum* v. 94, p. 399-410, 1995.
- OETIKER, J.H.; YANG, S.F. The role of ethylene in fruit ripening. *Acta Horticultural*, v.398, p.167-178, 1995.
- OKOROKOVA-FAÇANHA, A.L.; APPELGRAN, H.; TABISH, M.; OKOROKOV, L.; EKWALL, K. The endoplasmatic reticulum cation P-type ATPase Cta4p is required for control of cell shape and microtubule dynamics. *Journal of Cell Biology* 157: 1029-1039, 2002.
- PALMGREN, M. G. Plant Plasma membrane H⁺- ATPases : Powerhouses for nutrient uptake. *Annual Review Plant Physiology*, v. 52, p. 817-45, 2001.
- PENG, Y.B.; LU, Y.F.; ZHANG, D.P. Abscisic acid activates ATPase in developing apple fruit especially in fruit phloem cells. *Plant Cell and Environment*, v. 26, n. 8, p. 1329-1342, 2003.
- ROBINSON, S.P.; DAVIES, C. Molecular biology of grape berry ripening. *Aust J Grape Wine Res*, v. 6, p.175-188, 2000.
- SANDERS, D.; BETHKE, P. Membrane transport. In: *Biochemistry & molecular biology of plants. American Society of Plant Physiologists. ASPP.* Rockville p. 110-158, 2000.
- SANTOS, C.L.A. Influência do hormônio etileno n atividade da H⁺-ATPase de membrana plasmática durante o amadurecimento do mamão (*Carica papaya* L.) 'GOLDEN' dissertação de mestrado Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2009.
- SERRANO, R. Structure and finction of plasma membrane ATPase. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40: 61-94, 1989.
- SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibtors of ethylene responses in plants at receptor level: recent developments. *Physiology Plantarum*, v. 100, n. 3, p. 577-582, 1997.

SZE, H.; XUHANG, L.; PALMGRAN, M.G. Energization of plant cell membranes by H⁺ pumping ATPases: regulation and biosyntheses. *The Plant Cell* 11: 677-689, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. In.: *Plant Physiology*. 3rd ed., Sinauer Assoc., Sunderland, MA, 559, 2004.

TERRIER, N.; FRANÇOIS-XAVIER, S.; AGEORGES, A.; ROMIEU, C. Changes in acidity and in proton transport at the tonoplast of grape berries during development. *Planta*, v. 213, p.20-28., 2001.

WOODWARD, A. W.; BARTEL, B. Auxin: Regulation, action and interaction. *Annals of Botany* vol 95, Issue 5 707-735, 2005.

YANG, S.F. Biosynthesis and action of ethylene. *Horticultural Science*., v. 20, n. 1, p. 41-45, 1985.

ZANDONADI, D.; CANELLAS, L.; FAÇANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H⁺ pumps activation. *Planta*, v.225, p. 1583-1595, 2007.

ZHAO, R.; DIELEN, V.; KINET, J.M.; BOUTRY, M. Cossuppression of a plasma membrane H⁺-ATPase isoform impairs sucrose translocation, stomatal opening, plant growth, and male fertility. *Plant Cell*, v.12, p. 535-546, 2000.