

GILBERTO BARBANTE KERBAUY

# Fisiologia *Vegetal*

TERCEIRA EDIÇÃO



GUANABARA  
KOOGAN

## 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



# Auxinas

Helenice Mercier

## Introdução

A auxina foi o primeiro fitormônio descoberto, e os primeiros estudos fisiológicos acerca do mecanismo de expansão celular vegetal enfatizaram a ação desse hormônio. Todas as evidências sugerem que as auxinas exercem uma importante função na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal.

As auxinas e as citocininas têm sido consideradas fitormônios vitais às plantas, tanto que nenhum mutante verdadeiro, isto é, sem um dos dois hormônios, foi até hoje encontrado, sugerindo que mutações que eliminem totalmente a capacidade de produção de auxinas ou citocininas são letais. Entretanto, já foram isolados mutantes "auxina-relacionados", os quais têm possibilitado avanços consideráveis quanto ao modo de ação das auxinas em vários níveis.

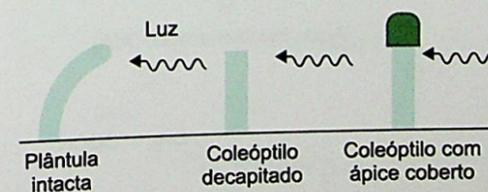
Este capítulo se inicia com um breve histórico sobre a descoberta das auxinas, seguido por uma descrição de suas estruturas químicas, sendo abordados mais à frente o metabolismo e o transporte do ácido indolilacético (AIA). Serão também discutidos alguns aspectos dos efeitos fisiológicos das auxinas, mecanismos de ação e aplicações comerciais.

## Histórico da descoberta

No final do século 19, as observações de Charles Darwin, famoso por seus estudos de evolução acerca dos movimentos das plantas, contribuíram decididamente para a descoberta das auxinas. Um dos fenômenos do crescimento vegetal por ele estudados foi o da curvatura de plântulas de gramíneas em resposta à iluminação unilateral, fenômeno conhecido como fototropismo (ver Capítulo 16). Darwin observou que coleóptilos de alpiste (*Phalaris canariensis*) respondiam à iluminação lateral crescendo em direção à fonte de luz. Entretanto, a resposta de curvatura de toda a extensão do coleóptilo não ocorria se o ápice desse órgão fosse removido ou, ainda, se fosse coberto por uma barreira de modo a não permitir a passagem da luz (Figura 9.1). Darwin concluiu que o ápice era o ponto sensor da luz e que deveria haver algum sinal, chamado por ele de "influência transmissível", produzido possivelmente no ápice, que seria transmitido às regiões inferiores da plântula, quando iluminada unilateralmente, causando, então, a curvatura. Após a publicação de suas ideias no livro *The power of movement in plants*, em 1881, vários outros pesquisadores vieram a confirmar os resultados por ele obtidos, além de terem aprofundado suas observações.

O termo "auxina" (do grego *auxein*, crescer ou aumentar) foi proposto por Fritz Went, que demonstrou, em 1926, a presença de uma substância ativa na promoção do crescimento, isto é, um composto causador da curvatura dos coleóptilos de gramíneas em direção à luz, desenvolvendo também uma técnica para quantificá-lo. A maior importância da pesquisa de Went residiu na demonstração de que a "influência transmissível", assim chamada por Darwin, poderia difundir-se do tecido vegetal para um bloco de ágar (gelatina). Pequenas porções desse bloco poderiam, então, ser usadas para testar sua capacidade de restaurar o crescimento dos coleóptilos decapitados. Assim, esse pequeno bloco de ágar, ao ser colocado assimetricamente sobre um coleóptilo decapitado, induzia a sua curvatura para o lado oposto ao contato com o bloco, em virtude do aumento na concentração de auxina que estimulou o alongamento celular do lado abaixo do bloco. Isso causava um crescimento diferencial entre os dois lados do coleóptilo, resultando em uma curvatura (Figura 9.2). Went trabalhou com plântulas de aveia (*Avena sativa*), demonstrando que a curvatura era proporcional à quantidade da substância promotora do crescimento presente no ágar, sendo até hoje utilizado o conhecido "teste de curvatura do coleóptilo de aveia" para estimar a quantidade de auxina em uma amostra (Figura 9.2). Essa foi a primeira vez que se empregou um bioensaio, isto é, um teste para determinar o efeito de uma substância biologicamente ativa em um material vegetal, visando à quantificação de um hormônio.

Os resultados das pesquisas de Went abriram caminhos para os estudos que se seguiriam na tentativa de isolar e identificar quimicamente as auxinas, culminando no isolamento do ácido indolil-3-acético (AIA) em 1946, extraído de grãos de milho imaturos. A partir de então, as pesquisas vêm demonstrando que o AIA é a principal auxina encontrada nas plantas vasculares.



**Figura 9.1** Experimentos fototrópicos realizados por Darwin no século 19 com coleóptilos de alpiste. Concluiu-se que um estímulo para o crescimento era produzido no ápice do coleóptilo, sendo transmitido para a zona de crescimento; quando o ápice era cortado ou coberto, não havia curvatura.

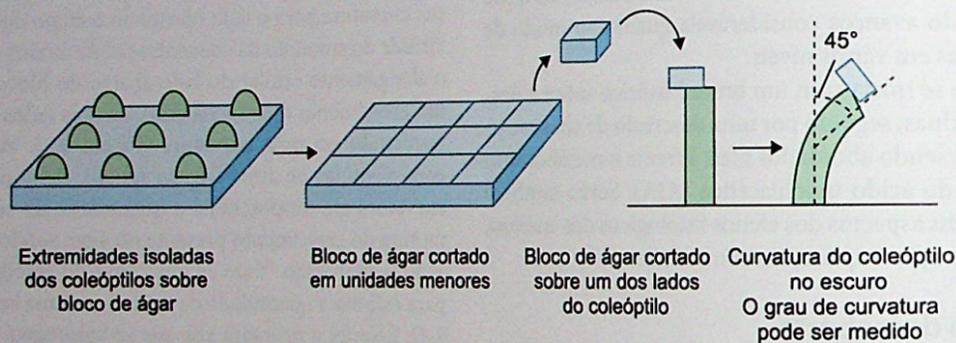
Atualmente, o "auxina" tem sido sendo empregado genericamente para descrever tanto as substâncias naturais quanto as sintéticas que estimulam o alongamento dos coleóptilos; como será visto mais à frente, elas regulam também o crescimento e o desenvolvimento vegetal.

**Auxinas naturais e sintéticas**

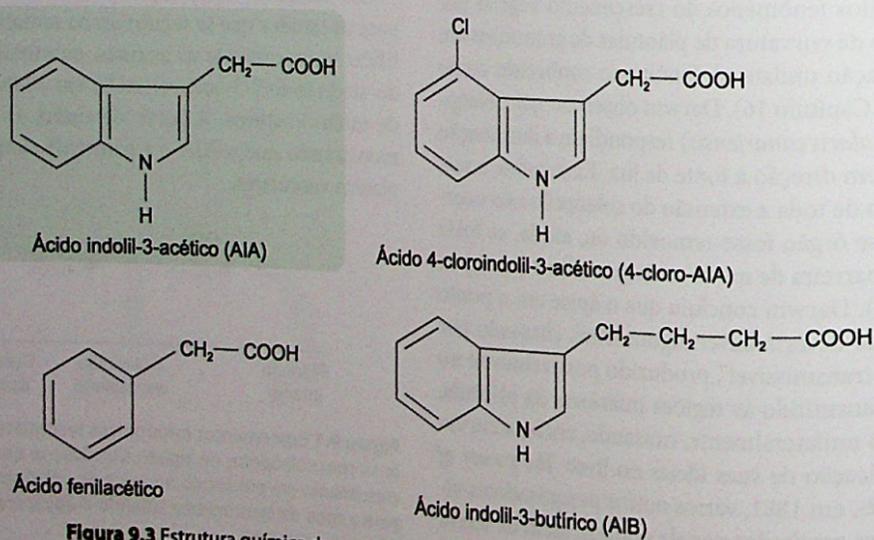
De modo geral, a auxina natural mais abundante é o AIA. Entretanto, dependendo da espécie, da idade da planta, da estação do ano e das condições sob as quais a planta se desenvolve, outras auxinas naturais podem ser encontradas, como um análogo clorado do AIA, o ácido 4-cloroindolil-3-acético (4-cloroAIA), o ácido fenilacético e o ácido indolil-3-butírico (AIB; Figura 9.3), ainda que faltem informações mais precisas a respeito da fisiologia e bioquímica dos últimos três compostos, existindo certa controvérsia se realmente atuam como hormônios nas plantas. Normalmente em bioensaios, essas auxinas são ativas em concentrações bem mais elevadas que o AIA, e suas funções no crescimento vegetal permanecem desconhecidas. Pesquisas recentes têm demonstrado que o AIB, além de agir como auxina, pode ser ele próprio uma forma de armazenamento de AIA, já que, por um mecanismo de oxidação que ocorre nos peroxissomos, esse composto pode converter-se em AIA livre.

Entre as auxinas sintéticas (Figura 9.4), isto é, aquelas sintetizadas em laboratórios e que causam muitas das respostas fisiológicas comuns ao AIA, encontram-se o ácido alfa-naftalenoacético ( $\alpha$ -ANA), o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), o ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico (dicamba) e o ácido 4-amino-3,5,5-tricloropicolínico (picloram). Grande parte das auxinas sintéticas é empregada na agricultura como herbicida, sendo as mais frequentemente usadas o 2,4-D, o picloram e o dicamba (ver "Ação herbicida de auxinas sintéticas").

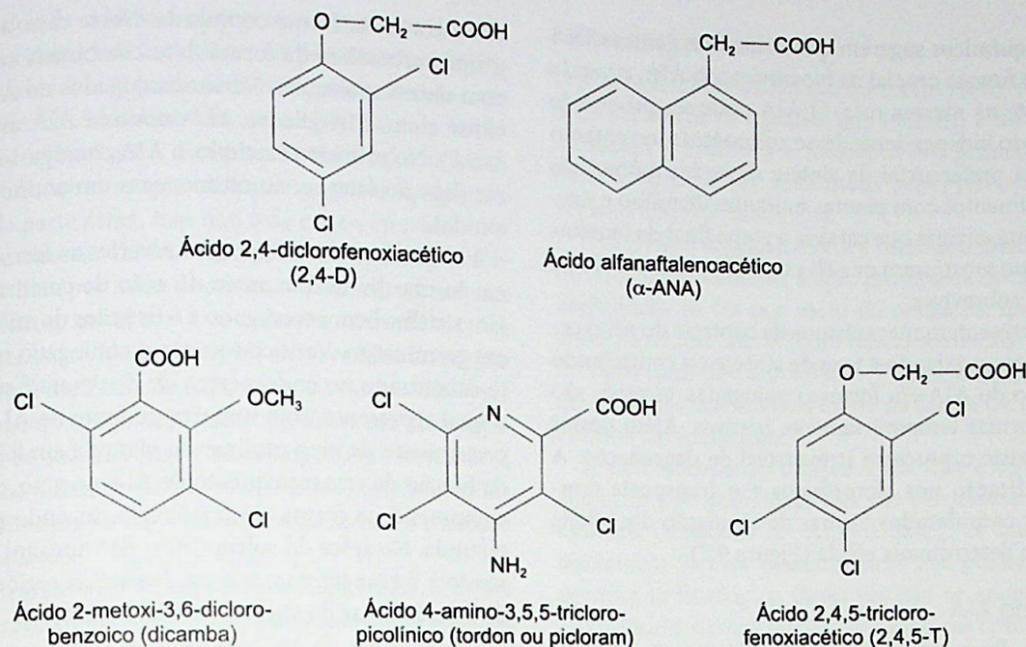
De modo geral, as auxinas sintéticas são denominadas *substâncias reguladoras do crescimento vegetal*, enquanto o termo *hormônio* ou *fitormônio* tem ficado restrito às auxinas naturais. Quimicamente, a característica que unifica todas as moléculas que expressam atividade auxínica é a existência de uma cadeia lateral ácida, a qual deve estar ligada a um anel aromático. Uma comparação entre vários compostos com atividade auxínica mostrou que, em pH neutro, eles têm uma forte carga negativa, resultante da dissociação do próton do grupo carboxílico, separada por uma distância de cerca de 0,5 nm, de uma carga positiva fraca proveniente do anel (Figura 9.5). Essa separação de cargas é considerada uma característica essencial para que um composto tenha atividade auxínica.



**Figura 9.2** Experimentos realizados por Went, em 1926, com coleóptilos de aveia, em que se demonstrou a presença de uma substância promotora do crescimento, a qual era difusível em blocos de ágar e induzia a curvatura dos coleóptilos proporcionalmente à sua concentração. Esse bioensaio ficou conhecido como "teste de curvatura do coleóptilo de aveia".



**Figura 9.3** Estrutura química das principais auxinas naturais encontradas nos vegetais.



**Figura 9.4** Estrutura química de algumas auxinas sintéticas.

**Metabolismo do AIA**

**Biossíntese do AIA**

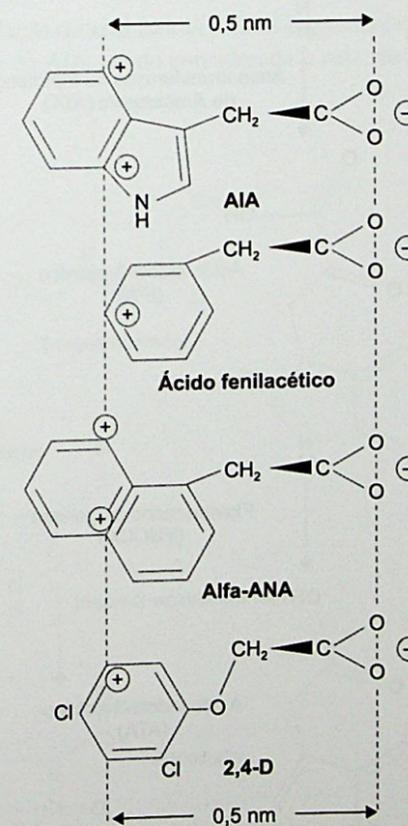
Em geral, a biossíntese do AIA está associada a locais de divisão celular rápida, especialmente no meristema apical caulinar, nas folhas jovens, nos frutos em desenvolvimento e em sementes. Esses locais são considerados os centros primários de produção do AIA, embora, em níveis inferiores, essa auxina possa ser também produzida em folhas maduras e mesmo nos ápices radiculares.

Em primórdios foliares de *Arabidopsis thaliana*, a auxina é sintetizada preferencialmente no ápice. No entanto, durante o desenvolvimento dessas folhas, há uma mudança gradual do local de síntese, passando à região marginal e, depois, à central das lâminas. Essa progressiva alteração nos locais de produção correlaciona-se com a sequência basípeta de maturação foliar e de diferenciação vascular.

Nas plantas vasculares, as rotas bioquímicas que levam à biossíntese do AIA não estão totalmente definidas, e muito menos as suas vias de regulação. Entretanto, sabe-se que existem duas rotas principais: a dependente de triptofano e a não dependente. A aplicação de isótopos radioativos, acoplada com técnicas precisas de quantificação do AIA, como as cromatografias líquida e gasosa associadas ao imunoensaio ou à espectrometria de massa, além das disponibilidades de plantas mutantes e linhagens transgênicas com alterações no metabolismo desse hormônio, tem possibilitado um avanço considerável no conhecimento das vias biossintéticas.

Existem fortes evidências de que o AIA é sintetizado a partir do aminoácido triptofano, possivelmente por algumas rotas de conversão, no entanto estudos recentes indicam que a via do ácido indolil-3-pirúvico (AIP) compreende a principal na biossíntese em plantas, sendo a única rota que cada passo enzimático já foi identificado (Figura 9.6). Para várias espécies, incluindo *Arabidopsis*, milho e arroz, o AIA é

sintetizado em duas etapas, iniciando-se pela conversão do triptofano em AIP por meio da ação das aminotransferases de triptofano de *Arabidopsis* (TAA). O segundo passo é realizado pelo grupo enzimático das flavina mono-oxigenases (conhecidas pela sigla YUCCA), produzindo o AIA. Estudos



**Figura 9.5** Formas dissociadas de auxinas mostrando a separação de 0,5 nm entre a carga negativa do grupo carboxílico e a carga positiva do anel. Essa separação de cargas é essencial para que um composto ter atividade auxínica.

genéticos e bioquímicos sugerem que as famílias gênicas *TAA* e *YUC* exercem função crucial na biossíntese do AIA, atuando sequencialmente na mesma rota. O AIA pode ser produzido também de modo independente desse aminoácido, no entanto não seria a rota preferencial de síntese desse hormônio nos vegetais. Experimentos com plantas mutantes de milho e *Ara-bidopsis* para uma enzima que catalisa a etapa final da biossíntese do triptofano mostraram que elas necessitam da adição de triptofano para sobreviver.

As plantas apresentam mecanismos de controle do nível celular de AIA livre, regulando a taxa de síntese ou controlando a transformação do AIA em formas conjugadas, as quais são consideradas formas temporariamente inativas. Além desses mecanismos, existe o processo irreversível de degradação. A compartimentalização nos cloroplastos e o transporte também devem ser considerados formas de regulação dos níveis de AIA livre em determinada célula (Figura 9.7).

### Conjugação do AIA

Embora o AIA livre seja a forma biologicamente ativa, a maior parte do conteúdo de auxinas presente em um vegetal

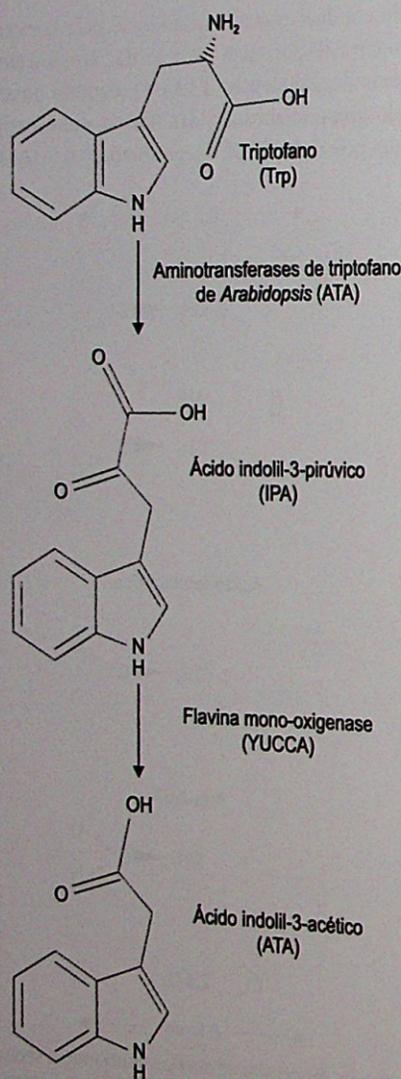


Figura 9.6 Principal rota biossintética de AIA dependente de triptofano em *Arabidopsis*.

encontra-se na forma conjugada. Nesse caso, a auxina tem o grupo carboxílico da forma livre combinada covalentemente com outras moléculas. Vários conjugados do AIA são conhecidos, como AIA-glicose, AIA-inositol e AIA-aspartato (Figura 9.8). No primeiro exemplo, o AIA conjuga-se com um açúcar (ligação éster) e, no último, com um aminoácido (ligação amida).

Em geral, as plantas podem reverter as formas conjugadas em formas livres, por meio da ação de enzimas hidrolíticas. Um sistema bem investigado é o de grãos de milho (*Zea mays*) em germinação. Verificou-se que o conjugado mais abundante encontrado no endosperma de *Zea mays* é o AIA-inositol, o qual representa uma importante fonte de AIA livre para o crescimento do eixo caulinar da plântula em formação. Além da função de armazenamento de AIA no grão, o AIA-inositol compreende a forma de transporte do endosperma para a plântula. No ápice do coleótilo, o AIA-inositol é hidrolisado, sendo a forma livre transportada para as regiões mais basais do eixo caulinar do vegetal em crescimento.

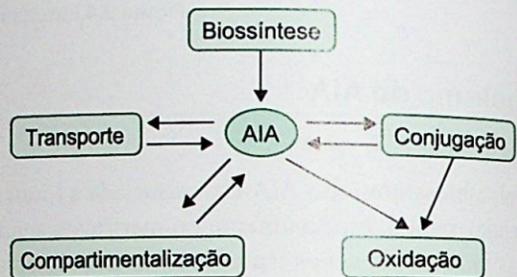


Figura 9.7 Mecanismos reguladores dos níveis de AIA livre nas células vegetais.

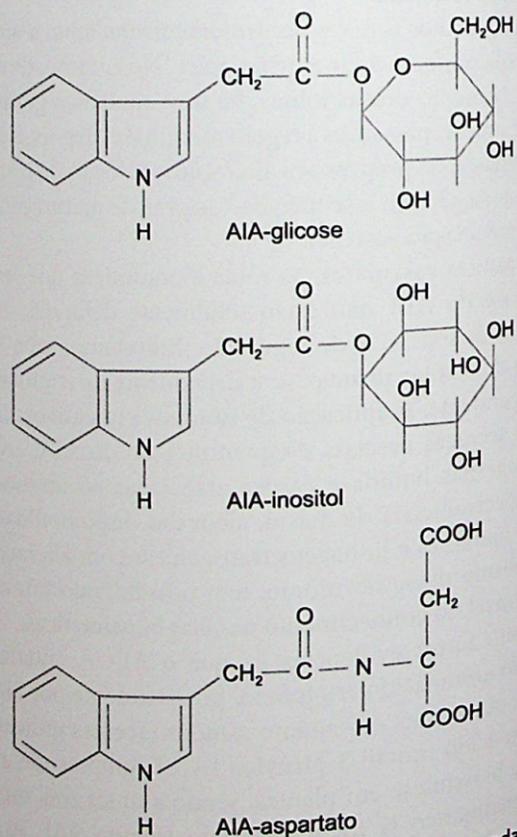


Figura 9.8 Estrutura química de três auxinas conjugadas.

Os conjugados de AIA são biologicamente ativos quando empregados em cultura de tecidos ou em bioensaios, sugerindo que essa atividade esteja diretamente correlacionada com a quantidade de AIA livre liberada após a hidrólise da forma conjugada no tecido vegetal. Em plantas cultivadas *in vitro*, por exemplo, observou-se que certos conjugados facilitam o crescimento da parte aérea, mas não o de raízes, enquanto outros têm efeito oposto. Tal fato resulta da capacidade de formação de AIA-livre por meio de enzimas hidrolíticas, as quais têm especificidade, atividade e localização diferenciais nos tecidos vegetais. A atividade biológica em si resulta da porção correspondente à molécula de AIA, e não do tipo de molécula conjugada. Assim, a regulação tanto da formação de conjugados quanto de sua hidrólise é uma importante ferramenta no controle dos níveis de AIA livre presentes nas plantas. Somam-se a isso outras funções, como a estocagem e a proteção contra a degradação.

Investigações mais recentes sobre a conjugação do AIA com aminoácidos revelaram que há uma grande família de enzimas com atividade de conjugação do AIA (GH3 - Gretchen Hagen 3), as quais catalisam essa transformação com certa especificidade tecidual ou com funções em determinadas fases do desenvolvimento. As conjugações com leucina (AIA-Leu) ou alanina (AIA-Ala) são facilmente hidrolisáveis, sugerindo que essa forma de conjugação contribui para o pool de auxinas livres e ativas. No entanto, outros conjugados podem ter outras funções, como participar do catabolismo do AIA. Há evidências de que as conjugações do AIA com aspartato (AIA-Asp) ou com glutamato (AIA-Glu) estão mais relacionadas com a degradação da auxina que com o seu armazenamento.

### Degradação do AIA

O AIA, quando em solução aquosa (*in vitro*), é degradado por uma variedade de agentes, que incluem a luz visível, ácidos, radiações ultravioleta e ionizante. No primeiro caso, a fotodestruição pode ser aumentada pela presença de pigmentos vegetais como a riboflavina.

Nos tecidos vegetais, o AIA é inativado imediatamente após ou concomitantemente à ação promotora do crescimento. Sua degradação se faz por meio da oxidação, que pode ocorrer tanto na cadeia lateral (com descarboxilação) quanto no anel indólico (sem descarboxilação; Figura 9.9). Somente uma pequena fração das auxinas existe na forma livre e ativa para os eventos de sinalização.

A descarboxilação oxidativa do AIA é catalisada por enzimas do tipo peroxidase (via das peroxidases; Figura 9.9 A), também chamadas de AIA-oxidases, as quais existem em numerosas formas isoenzimáticas nas plantas. Entretanto, o significado fisiológico dessa via não se encontra ainda bem estabelecido. Certas plantas transgênicas com superexpressão de genes para a síntese de peroxidases não apresentaram alterações significativas nos níveis de AIA. Nem mesmo mutantes com diminuição de até 10 vezes na atividade peroxidásica apresentaram alterações no conteúdo de AIA.

As auxinas sintéticas e as formas conjugadas de AIA não são desativadas pelas peroxidases, persistindo por mais tempo nas plantas, em comparação com o AIA. Por esse motivo, também se atribui à conjugação do AIA a função de proteção contra a degradação.

A oxidação do anel indólico é um segundo caminho de degradação do AIA, sendo considerada a rota mais importante

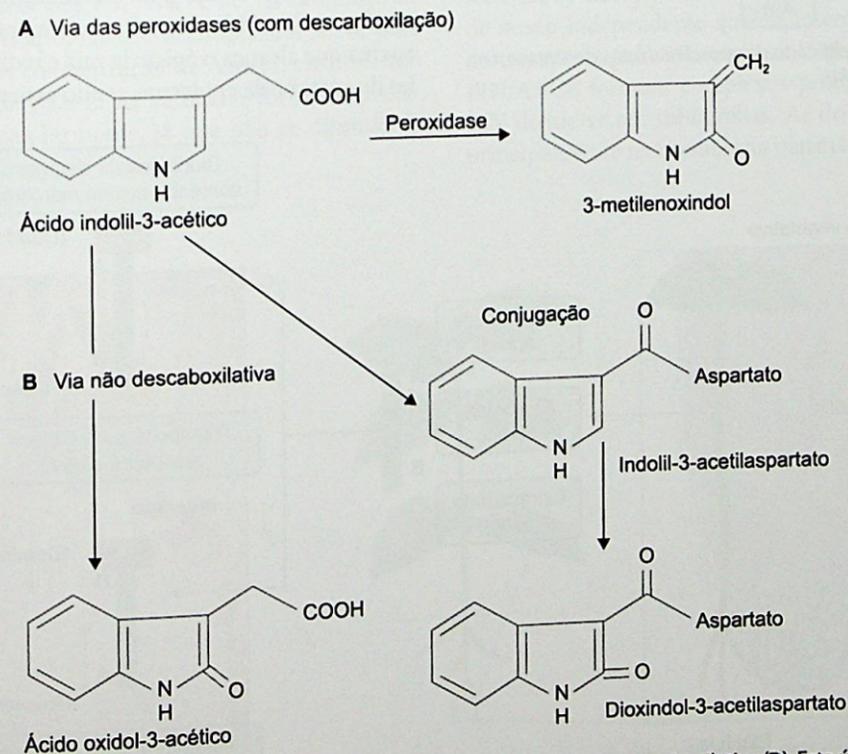


Figura 9.9 Rotas de degradação do AIA: via das peroxidases ou descarboxilativa (A); via não descarboxilativa (B). Esta última é mais frequente nas plantas.

de degradação do AIA (via não descarboxilativa; ver Figura 9.9 B). A atividade enzimática envolvida nesse processo é ainda pouco conhecida. O produto final do catabolismo do AIA é o ácido oxindol-3-acético (AIA-Ox). A inativação do AIA por essa via é irreversível. Estudos com aplicação de AIA mostraram um rápido acúmulo de ácido oxindol-3-acético (AIAOx) nos tecidos, indicando que a oxidação do AIA tem uma importante função na regulação dos níveis de auxinas ativas nas plantas. Foi demonstrado para várias plantas que, por essa via, há a necessidade de ocorrer primeiro a conversão do AIA em sua forma conjugada com o aminoácido aspartato (AIA-aspartato) para, então, desencadear o processo irreversível de catabolismo não descarboxilativo. Assim, o AIA-aspartato parece ter uma função específica de marcar o AIA disponível para a degradação.

Um esquema simplificado das possíveis rotas de síntese, conjugação e degradação do AIA é apresentado na Figura 9.10, na qual estão indicadas a síntese *de novo* pelas vias dependente e independente de triptofano (indol), a oxidação do AIB e a hidrólise de formas conjugadas, aumentando o nível de AIA livre e a degradação do AIA por oxidação. As sínteses de conjugados hidrolisáveis e de AIB podem também contribuir para a redução dos níveis de AIA, assim como a oxidação.

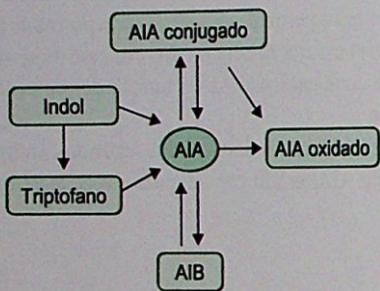


Figura 9.10 Esquema simplificado das possíveis rotas de síntese, conjugação e degradação do AIA.

### Transporte polar das auxinas

O transporte de auxinas tem uma importância fundamental no crescimento e desenvolvimento dos vegetais, agindo como um fator determinante nos processos de expansão/alongamento celular, nos movimentos trópicos, na divisão das células, na diferenciação vascular, na dominância apical, na senescência e abscisão. Cada um desses tópicos será discutido mais adiante neste capítulo.

As auxinas são os únicos fitormônios transportados polarmente, isto é, o fluxo de auxinas acontece direcionalmente, sendo do ápice para a base das plantas a direção mais comum. No entanto, existe também um transporte apolar pelo floema, como acontece em folhas maduras, no qual a maior parte do AIA sintetizado pode ser transportada para as demais partes da planta.

Nos estudos para quantificar o transporte polar das auxinas, empregou-se o método dos blocos de ágar doador e receptor, conforme indicado na Figura 9.11. Um bloco de ágar contendo auxina marcada radioativamente (bloco doador) é colocado em uma das extremidades de um segmento caulinar ou de hipocótilo, e um bloco receptor na extremidade oposta. A efetividade do movimento da auxina pelo tecido vegetal em direção ao bloco receptor pode ser determinada por meio do tempo, medindo-se a radioatividade presente nesse bloco receptor. A partir de vários ensaios usando esse tipo de método, as propriedades do transporte polar das auxinas puderam ser estabelecidas. Em coleótilos e em ramos vegetativos, o transporte basípeto predomina (Figura 9.11). O principal local por onde se dá o transporte basípeto em caules e folhas é o parênquima vascular.

Nas raízes, o transporte da base para o ápice (movimento acrópeto) pode se dar pelo parênquima xilemático, pelo periciclo e pelo tecido floemático. Uma pequena quantidade da auxina que alcança o ápice da raiz é redistribuída para as células do córtex e da epiderme, sendo assim transportada de volta

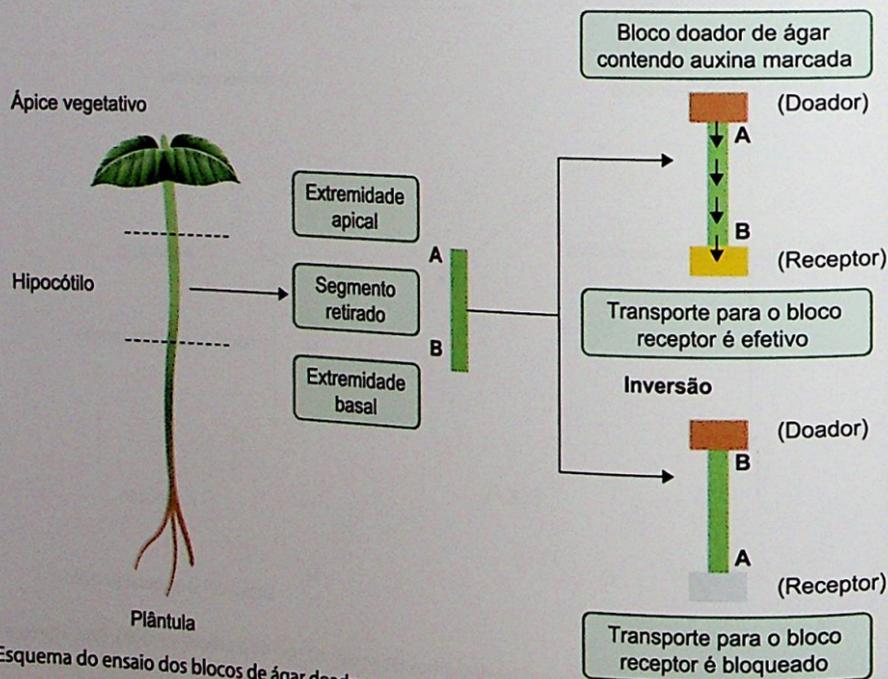


Figura 9.11 Esquema do ensaio dos blocos de ágar doador e receptor para quantificar o transporte polar da auxina em caule jovem.

à região basal (movimento basípeto radicular) até a zona de alongamento, onde o AIA, em baixas concentrações, regula o alongamento das células radiculares (Figura 9.12).

O movimento polar da auxina ocorre célula a célula, em vez de se valer dos plasmodesmas, ou seja, do simplasto celular. Assim, o AIA deixa a célula pela membrana plasmática de uma célula, difundindo-se para as paredes primárias próximas e passando destas para a célula imediatamente abaixo, pela membrana plasmática.

De acordo com a teoria mais antiga sobre o transporte de auxinas, estas se moveriam no citoplasma celular, onde seriam secretadas ativamente por meio de carregadores presentes no lado basal de cada célula. Na década de 1970, um novo modelo sobre o transporte polar das auxinas foi proposto, conhecido como transporte quimiosmótico da auxina.

### Teoria quimiosmótica

De acordo com essa teoria, tanto a entrada de AIA nas células quanto a sua saída seriam processos passivos, dependentes de um gradiente eletroquímico favorável encontrado entre o apoplasto (parede celular) e o citoplasma celular (Figura 9.13). O AIA se caracteriza por ser um ácido fraco, lipofílico. Conforme o pH do meio, o AIA pode existir sob duas formas: a protonada (AIA-H) e a aniônica, esta, portanto, dissociada (AIA<sup>-</sup>). O apoplasto é moderadamente ácido, com pH em torno de 5. Nessa condição, a forma AIA-H predomina. Essa forma é mais lipossolúvel que a forma aniônica, penetrando mais facilmente pela membrana plasmática. Assim, o AIA-H presente nos espaços da parede celular difundir-se-á a favor de seu gradiente de concentração, entrando na célula. Uma vez no citoplasma, onde o pH se encontra em torno de 7, o AIA-H se dissociará em AIA<sup>-</sup> e H<sup>+</sup>. A diferença de pH verificada entre o apoplasto e o citoplasma serve para manter o gradiente de concentração de AIA-H, estimulando a entrada contínua de AIA-H na célula. A forma dissociada acumula-se intracelularmente, já que não se difunde de modo fácil pela membrana.

A saída do AIA<sup>-</sup> é favorecida pelo potencial de membrana normal (lado de fora positivo) por meio da membrana plasmática, alcançando, então, a parede celular, onde o AIA<sup>-</sup> é novamente protonado, formando AIA-H. Essa forma difunde-se pelos espaços da parede celular, entrando na célula subjacente onde se difunde, ou é carregado pela corrente citoplasmática para a porção basal celular. A teoria quimiosmótica previa a possibilidade de haver transportadores de saída de AIA<sup>-</sup>, os quais se localizariam especificamente na região basal. Dessa forma, haveria um movimento basípeto preferencial por uma coluna de células (Figura 9.13).

Bombas de prótons (ATPases), localizadas na membrana plasmática, operam no sentido de prevenir a acumulação de íons H<sup>+</sup> no citoplasma, mantendo tanto certo grau de acidez no apoplasto quanto um potencial de membrana favorável (Figura 9.13).

Foi confirmado muito tempo depois que existem três principais famílias de proteínas transmembrânicas que transportam auxina pela membrana plasmática, confirmando a previsão da existência de transportadores de AIA proposta pela teoria quimiosmótica. Tanto a entrada de AIA-H quanto a saída de AIA<sup>-</sup> são mediadas por proteínas transportadoras. Portanto, atualmente, sabe-se que a auxina pode entrar nas células a partir de qualquer direção por meio de dois mecanismos: (1) difusão passiva da forma protonada (AIA-H); e (2) por proteínas transportadoras da forma protonada (AUX) que utilizam um mecanismo de cotransporte do tipo simporte de H<sup>+</sup>-AIAH. Quanto à saída de AIA, a forma dissociada não consegue passar pela membrana plasmática, necessitando ser transportada ativamente por proteínas transportadoras (PIN e ABCB). As proteínas PIN (do inglês *pin-shaped inflorescences*) e ABCB (também conhecidas por glicoproteínas-P com localização não polar) interagem, podendo funcionar tanto de modo independente quanto interdependente no controle do transporte polar das auxinas (Figura 9.14). Em particular, PIN/ABCB formam complexos proteicos estáveis. A família PIN divide-se em subfamílias. As do tipo I estão localizadas principalmente na membrana plasmática (PIN1, PIN2, PIN3,

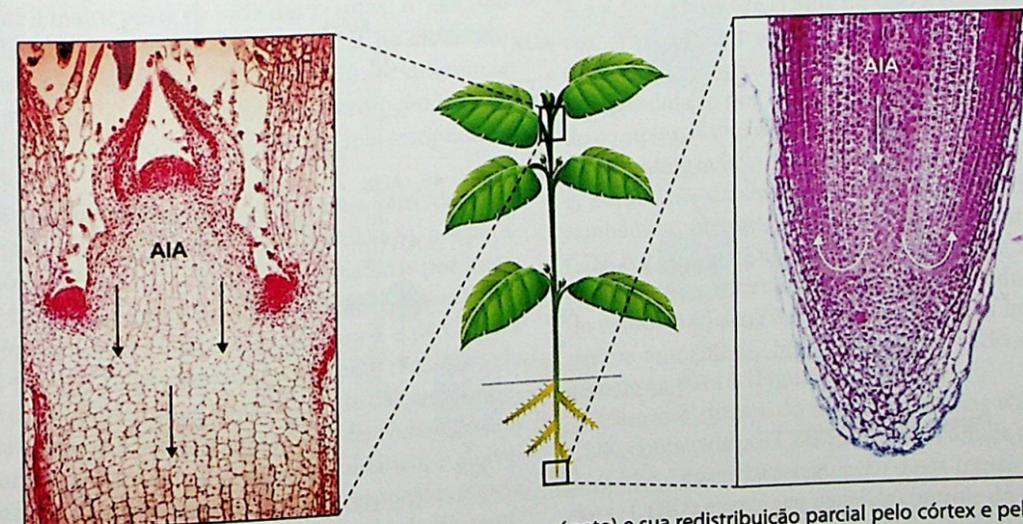


Figura 9.12 Chegada de AIA na raiz pelo cilindro vascular (transporte acrópeto) e sua redistribuição parcial pelo córtex e pela epiderme (transporte basípeto), atingindo a região de alongamento radicular.

PIN4, PIN 6 e PIN7), enquanto as do tipo II (PIN5 e PIN8) situam-se no retículo endoplasmático. Nas células, as proteínas PIN do tipo I têm uma localização polar, correlacionando-se diretamente com a direção do fluxo de auxinas. Dessa maneira, no transporte basal de auxinas, por exemplo, a direção do movimento é dada pelo posicionamento basal das PIN nas células (Figura 9.14). A repetição da absorção da auxina na porção apical de uma célula com sua liberação na região basal estabelece um *continuum* no vegetal, originando o efeito do transporte polar da auxina (TPA) como um todo.

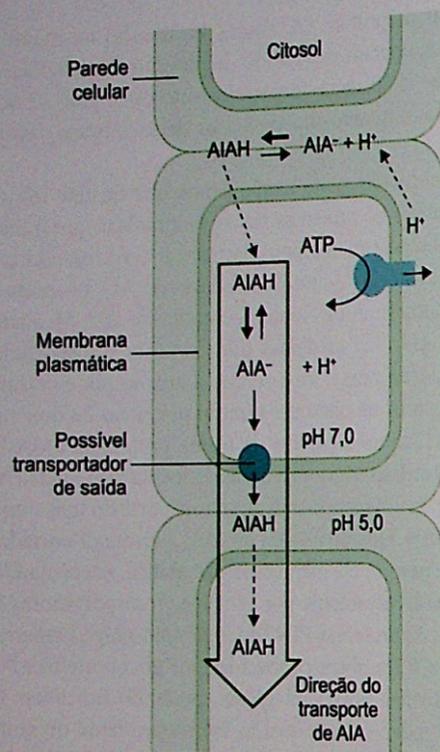


Figura 9.13 Hipótese quimiosmótica para o transporte polar da auxina (TPA).

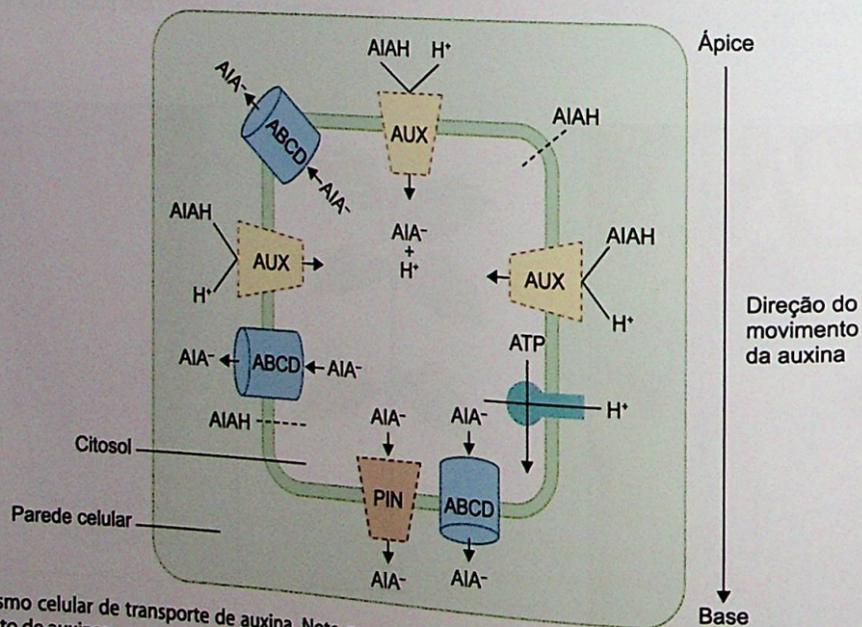


Figura 9.14 Mecanismo celular de transporte de auxina. Note que o transportador de saída de AIA<sup>-</sup> (PIN) tem localização polar, conferindo a direção do movimento de auxinas.

Demonstrou-se que as proteínas PIN, embora estáveis, não permanecem fixas na membrana plasmática. Na realidade, sua localização é dinâmica, podendo remodelar o posicionamento em razão do desenvolvimento da planta ou de fatores ambientais.

As proteínas PIN podem ciclar rapidamente para um compartimento intracelular (endossomo), voltando depois para a membrana plasmática. Esse movimento cíclico é dirigido por um citoesqueleto de actina que controla o transporte das proteínas PIN, localizando a fixação transitória e assimétrica dessas proteínas na membrana (Figura 9.15). Por meio desse mecanismo, esses transportadores de saída para um novo posicionamento na membrana podem ser redistribuídos quando o transporte polar da auxina for alterado por alguns estímulos, como pela luz ou gravidade, os quais causam um crescimento diferencial: fototropismo e gravitropismo, respectivamente.

Essa alta adaptabilidade da maquinaria de transporte de auxinas em resposta a variações do desenvolvimento ou ambiental está relacionada não somente com mudanças genômicas, mas também com um controle pós-traducional dos transportadores. Entre as modificações pós-traducionais, a fosforilação está diretamente implicada na localização dos transportadores de saída das auxinas. As proteínas PIN, quando fosforiladas por meio da atividade de enzimas do tipo cinase, são posicionadas na parte apical da célula; já quando desfosforiladas pela ação de fosfatases, são direcionadas para a base (Figura 9.15).

O transporte polar da auxina pode ser interrompido pelo emprego de certas substâncias inibidoras desse transporte, como o ácido naftilftalâmico (conhecido como NPA) e o ácido tri-iodobenzoico (conhecido como TIBA). Esses compostos inibem o transporte polar, bloqueando a saída de auxinas das células, ligando-se aos transportadores de saída (complexo proteico PIN). Foi demonstrado experimentalmente que, quando segmentos caulinares ou de hipocótilos são incubados em soluções que contenham um desses inibidores, somados à

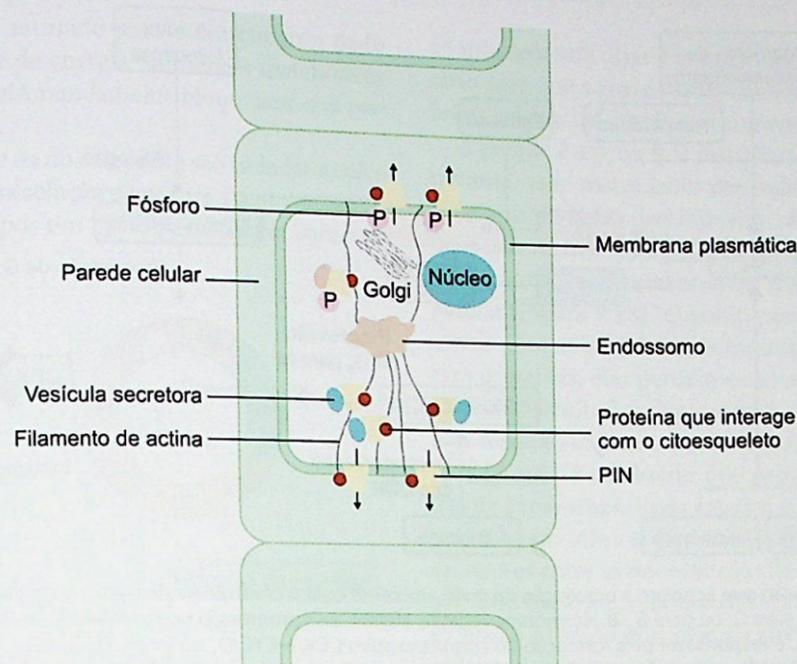


Figura 9.15 Movimento das proteínas transportadoras de saída de AIA (PIN) por meio de filamentos de actina que direcionam o transporte de vesículas secretoras até a membrana plasmática a partir de um compartimento interno e, também, no sentido inverso. A afinidade das proteínas PIN pela membrana plasmática (apical ou basal) é modificada pelo estado de fosforilação.

auxina marcada radioativamente (<sup>14</sup>C-AIA), há um acúmulo desse hormônio intracelularmente, sugerindo que a entrada de AIA não é afetada, mas somente a sua saída.

### Efeitos fisiológicos das auxinas

#### Divisão, crescimento e diferenciação celular

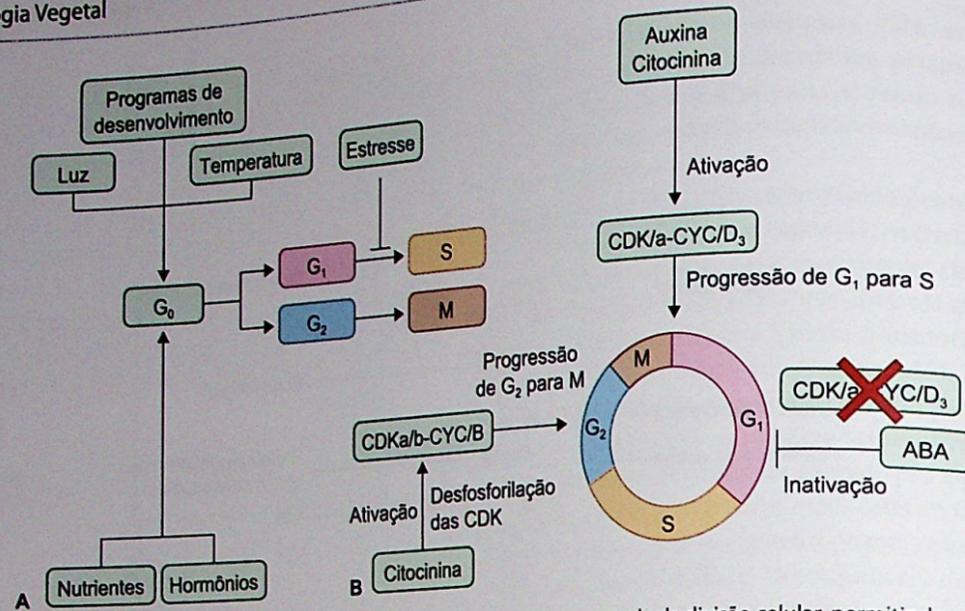
##### Divisão celular

O estabelecimento da arquitetura da planta e das diferentes funções das células vegetais depende da capacidade da célula de se dividir e diferenciar. A maior parte da atividade de divisão celular nas plantas está localizada em pequenos grupos de células, que formam os meristemas. Esses tecidos já estão presentes no embrião e são ativos, ou potencialmente ativos, durante a maior parte da vida das plantas. A "decisão" de uma célula individual de se dividir (entrar no ciclo celular), permanecer em repouso (G<sub>0</sub>) ou, então, se diferenciar depende da presença e da capacidade de percepção a vários sinais, como níveis hormonais, nutrientes, luz, temperatura etc. (Figura 9.16 A).

O ciclo de divisão celular consiste em uma série de alternância de fases, como a replicação do DNA (fase S), a separação cromossômica (fase M ou mitose), intercaladas por intervalos entre M e S (G<sub>1</sub>) e entre S e M (G<sub>2</sub>). Pontos importantes de controle operam nas transições de G<sub>1</sub> para S e de G<sub>2</sub> para M, os quais são exercidos primariamente pela regulação da atividade de certas proteínas, particularmente das cinases dependentes de ciclina (CDK, do inglês *cyclin-dependent protein kinases*; Figura 9.16 B). Apenas para efeito didático, é conveniente lembrar que as cinases são enzimas responsáveis pela fosforilação (adição de fósforo) de moléculas biologicamente importantes. Nos vegetais, dois grupos de hormônios, as

auxinas e as citocininas, estimulam a proliferação da grande maioria de tipos de células. Muitos tecidos, como os de folha, raiz ou caule, ao serem cultivados *in vitro*, na presença desses dois hormônios em concentrações apropriadas, podem formar massas celulares, chamadas de calos, gemas ou raízes. A necessidade de uma auxina e uma citocinina na indução e manutenção da divisão celular é conhecida há muito tempo (ver Capítulo 10). Mas em que nível da regulação do ciclo celular esses fitormônios agem? Progressos obtidos com o cultivo *in vitro* de células de medula de tabaco mostraram que a auxina, quando presente isoladamente no meio de cultura, aumentava o nível de uma proteína-cinase dependente de ciclina. A adição de citocinina era necessária, entretanto, para a ativação dessa cinase. Mais recentemente, determinou-se que, na transição de G<sub>1</sub> para S, a auxina aumenta o conteúdo da cinase dependente de ciclina do tipo a (CDK/a), a qual, por sua vez, precisa ser ativada por uma ciclina específica, a do tipo D<sub>3</sub> (CYC/D<sub>3</sub>, do inglês *cyclin D<sub>3</sub>*). Por sua vez, o nível da ciclina D<sub>3</sub> é modulado por citocinina. Somente a partir da formação do complexo ativo CDK/a-CYC/D<sub>3</sub>, a célula adquire capacidade para progredir no ciclo, passando para a fase seguinte, isto é, a iniciação da síntese de DNA (Figura 9.16 B). As plantas também apresentam proteínas capazes de inibir o complexo CDK/a-CYC/D<sub>3</sub>. Em resposta a uma variação ambiental que provoque um estresse nas plantas, mediado pela sinalização do ácido abscísico (ABA), essas proteínas inibidoras têm sua síntese aumentada, interrompendo o ciclo celular na passagem de G<sub>1</sub> para S (Figura 9.16 B).

Além das cinases do tipo a, as plantas têm outra classe de CDK, conhecida por CDK/b, que se acumula na transição de G<sub>2</sub> para M e é essencial à regulação dessa transição. Nota-se que a classe CDK/a exerce seu papel de controle do ciclo em ambas as transições G<sub>1</sub>/S e G<sub>2</sub>/M. A progressão da fase de S para a mitose



**Figura 9.16** A. Vias de sinalização que acoplam a percepção do meio ambiente com o controle da divisão celular, permitindo que células em repouso ( $G_0$ ) progridam no ciclo para  $G_1$  ou para  $G_2$ . B. Hormônios vegetais afetam essa progressão no ciclo celular em pontos específicos. A auxina, em conjunto com a citocinina, é responsável pela formação do complexo ativo CDK/a-CYC/D<sub>3</sub> no intervalo  $G_1$ -S; a citocinina é responsável pela desfosforilação das cinases, ativando os complexos CDK/a-b-CYC/B no intervalo  $G_2$ -M; e o ácido abscísico (ABA) pode interromper a progressão no ciclo na transição de  $G_1$  para S, em decorrência do surgimento de um estresse.

propriamente dita (fase M) depende também do aparecimento de uma ciclina específica, a do tipo B (CYC/B). Ainda, para que os complexos CDK/a-b-CYC/B, típicos de  $G_2$ /M, sejam ativados, uma fosfatase (enzima responsável pela retirada de fósforo de moléculas), induzível por citocininas, deve desfosforilar essas cinases (CDK/a/b; Figura 9.16 B).

**Expansão/alongamento celular**

O crescimento em tamanho da célula vegetal não meristemática se caracteriza por um aumento irreversível de seu volume, o qual pode ocorrer por expansão, isto é, um aumento de tamanho em duas ou três dimensões, ou por alongamento, que representaria um tipo de expansão que ocorre exclusivamente em uma direção, por exemplo, expansão em comprimento. As células de caules e raízes se expandem quase inteiramente por alongamento; seus diâmetros, normalmente, aumentam menos de 5%.

As células vegetais, antes de alcançarem a maturidade, podem aumentar seus volumes de 10 a 100 vezes; em casos extremos, esse aumento do volume celular pode chegar a 10 mil vezes, como acontece no alongamento dos elementos de vaso do xilema. Essa expansão ocorre sem a perda da integridade mecânica e, geralmente, sem alteração de espessura. Esse aumento de volume é sempre acompanhado pela entrada de água, com relativamente pouco aumento na quantidade de citoplasma, já que se trata de um processo regulado pelo vacúolo (ver Capítulo 1). Em termos energéticos e de investimento de material, esse é um processo econômico de crescimento, permitindo que certas plantas, como as sequoias, alcancem dimensões realmente fantásticas.

Muitos fatores influenciam a taxa de expansão/alongamento da parede celular, alguns de natureza intrínseca, como o tipo de célula, sua idade e as presenças de auxina e giberelina, e outros de natureza extrínseca (ambiental), como a disponibilidade de água, luz, temperatura e gravidade. Esses fatores internos e externos agem, provavelmente, modificando certas

propriedades da parede celular. O controle da expansão celular é essencial para os processos morfogênicos nos vegetais, já que a morfologia de um órgão é determinada pelo tamanho, pela forma e pelo número de células. Os padrões de divisão celular, iniciados no embrião e nos meristemas, são subsequentemente amplificados e modificados pela expansão celular, produzindo como consequência órgãos com formas e dimensões características.

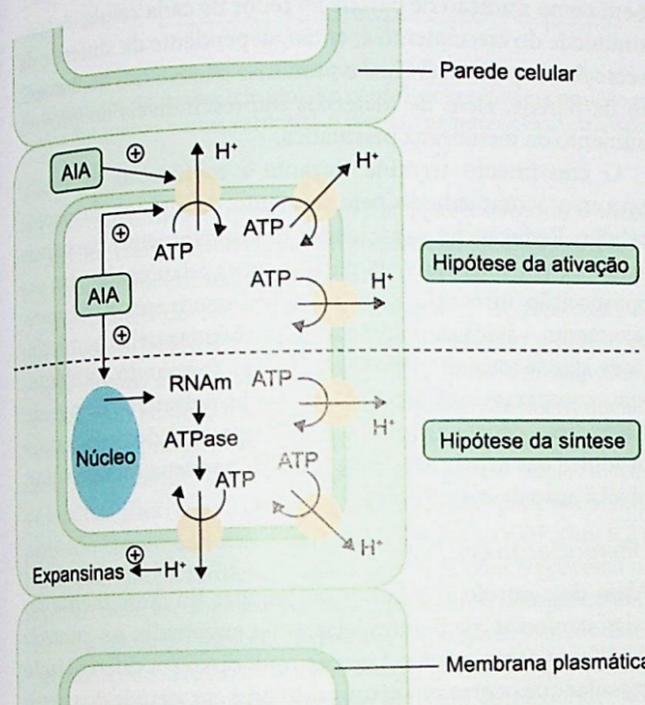
Para que as células se expandam, a parede celular, que é rígida, deve ser afrouxada de alguma maneira. De acordo com a hipótese do crescimento ácido, esse afrouxamento seria induzido pela acidificação da parede celular, resultante da extrusão de prótons pela membrana plasmática. Esse afrouxamento é essencial, pois uma célula vegetal em crescimento, sob condições hídricas satisfatórias, tem seu turgor (pressão hidrostática positiva do protoplasto contra a parede circundante) e o seu potencial hídrico reduzidos, permitindo a absorção de água e, em consequência, a expansão/alongamento celular. Sem a ocorrência do afrouxamento, a síntese de nova parede somente causaria um espessamento, e não uma expansão.

**Hipótese do crescimento ácido**

Em 1970, foi proposta uma teoria para explicar como a auxina causaria um aumento na extensibilidade da parede celular. Tal hipótese propõe que a auxina acidifica a região da parede celular por estimular a célula competente a excretar prótons. O abaixamento do pH ativa uma ou mais enzimas, com pH ótimo ácido, que causariam o afrouxamento da parede celular. Há evidências mostrando que a auxina aumenta a taxa de extrusão de prótons, estimulando dois possíveis processos:

1. A ativação de  $H^+$ -ATPases preexistentes na membrana plasmática.
2. A síntese de novas  $H^+$ -ATPases de membrana plasmática (Figura 9.17).

De modo previsível, o estímulo para o crescimento dado pela auxina é dependente de energia; inibidores metabólicos de síntese proteica e de RNA rapidamente bloqueiam essa resposta de crescimento. Quando seções de caule ou do coleótilo são isoladas e colocadas em contato com uma solução de auxina, há um aumento na taxa de crescimento após um curto período: em torno de



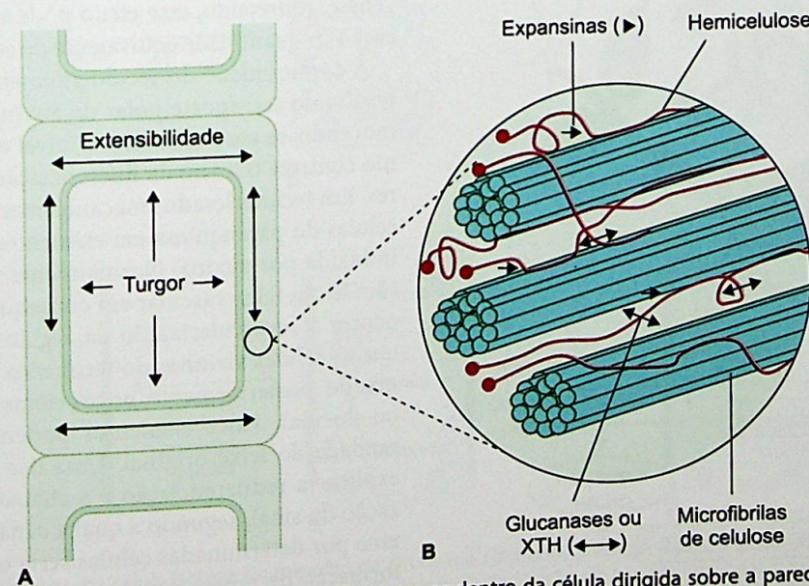
**Figura 9.17** Modelo de acidificação da parede celular induzida por AIA, por meio da ativação de ATPases preexistentes na membrana plasmática (hipótese da ativação) e/ou pela síntese de novo de ATPases incorporadas à membrana (hipótese da síntese).

10 min somente. Esse é considerado o tempo mínimo necessário para que a auxina cause uma hiperpolarização da membrana celular, induzindo um aumento na taxa de crescimento.

A parede é a principal resistência à expansão celular; entretanto, esse mecanismo dependente do pH de aumentar a extensibilidade, denominado *crescimento ácido*, resulta no deslizamento entre si dos seus polímeros constituintes (polissacarídeos), aumentando, assim, a área superficial da parede (Figura 9.18). Quando paredes são tratadas previamente com calor, proteases ou outros agentes que desnaturam proteínas, elas perdem essa capacidade de deslizamento. Esses resultados demonstram que o crescimento ácido não resulta simplesmente de alterações físico-químicas da parede, mas é catalisado por proteínas de parede, chamadas de expansinas. Estas causam o afrouxamento da parede por atuarem sobre as ligações do tipo pontes de hidrogênio, existentes entre as microfibrilas de celulose e as hemiceluloses (polissacarídeos da matriz). O aumento subsequente da extensão é obtido por meio da atividade de hidrolases específicas ativadas em pH ácido, como celulases, hemicelulases, glucanases e pectinases (Figura 9.18). Ao mesmo tempo que ocorre o afrouxamento da parede celular, há absorção de água pelo protoplasma, a qual é induzida pelas reduções do turgor celular e, conseqüentemente, do potencial hídrico, que, assim, se torna mais negativo, permitindo a entrada de água e a expansão.

**Continuidade do crescimento**

A auxina, além de induzir a acidificação da parede celular e o conseqüente afrouxamento, promove outros processos importantes que proporcionam a continuidade do crescimento da célula, como os aumentos na absorção de solutos osmóticos (p. ex., potássio) e na atividade de certas enzimas relacionadas com a biossíntese de polissacarídeos de parede.



**Figura 9.18** Esquema da parede primária mostrando a pressão de turgor dentro da célula dirigida sobre a parede celular (A) e os pontos de atuação de algumas enzimas que agem no processo de afrouxamento da parede durante o crescimento (B). A auxina está envolvida com o rompimento das ligações da hemicelulose, permitindo que as microfibrilas de celulose deslizem umas sobre as outras.

Alguns processos bioquímicos devem ocorrer nas células em expansão para compensar a diluição do conteúdo vacuolar causado pela entrada de água, levando a um ajustamento osmótico ou à osmorregulação para manutenção do turgor celular. Um mecanismo de osmorregulação induzido pela ação da auxina foi observado em células do coleótilo de milho em processo de alongamento, nas quais a aplicação de auxina (ANA) aumentava o número de canais de entrada de potássio na membrana plasmática. Isso resultou da regulação da expressão gênica causada pela auxina, isto é, o nível de transcrição do gene *zmk1*, que codifica a proteína de canal de K<sup>+</sup> em *Zea mays*, foi aumentado de 5 a 7 vezes, triplicando o número de canais ativos de K<sup>+</sup> por célula.

Outro aspecto interessante acerca do crescimento é que a auxina pode induzir a síntese de outros hormônios, como a do ácido giberélico (AG<sub>1</sub>), que também tem efeito sobre o alongamento celular. A indução da biossíntese de AG<sub>1</sub> por AIA foi descoberta durante a investigação para saber por que a decapitação do caule de ervilha eliminava sua capacidade de sintetizar AG<sub>1</sub> a partir de seu precursor AG<sub>20</sub> (Figura 9.19). Como o ácido giberélico é conhecido por sua ação sobre o alongamento celular, fica então caracterizada uma ação sinérgica entre a auxina e a giberelina na expansão celular. Para alguns vegetais, sabe-se que a giberelina participa da promoção da síntese da enzima xiloglucano transglicosidase hidrolase, conhecida por XTH, responsável pela modificação do arranjo dos xiloglucanos na parede celular primária (Figura 9.18). Em eudicotiledôneas, o xiloglucano é o principal componente da



Figura 9.19 Efeito da auxina sobre a síntese de giberelina em caule de ervilha. O AIA é transportado do ápice para a região dos entrenós em alongamento, onde ativa a etapa de transformação de AG<sub>20</sub> para AG<sub>1</sub>.

fração hemicelulósica da parede primária e a XTH promove a quebra entre as ligações da celulose com o xiloglucano, causando o afrouxamento da parede. Assim, em uma ação coordenada entre expansinas e XTH, a expansão/alongamento celular pode ocorrer (ver Capítulo 8).

A expansão e/ou o alongamento celular, durante o crescimento vegetal, são processos irreversíveis que requerem, como já mencionado, a absorção de água (cerca de 70 a 95% da massa das células em crescimento é composta por água), bem como a adição de parede ao redor de cada célula. A continuidade do crescimento é, então, dependente da síntese e da secreção de polissacarídeos e proteínas necessárias ao aumento da parede, além de materiais imprescindíveis ao próprio aumento da membrana plasmática.

O crescimento termina durante a maturação da célula, processo acompanhado pelo aumento da rigidez da parede celular. Redução na capacidade de afrouxamento da parede acontece em consequência de alterações estruturais e em sua composição, tornando-a mais rígida e menos suscetível ao relaxamento – por exemplo, alterações sofridas pelas hemiceluloses, que se tornam menos ramificadas, formando complexos mais compactos com a celulose e outros polímeros de parede. Além disso, ocorre uma redução na expressão dos genes codificadores das expansinas e/ou a parede se torna menos vulnerável à ação dessas enzimas.

Diferenciação celular

Além do controle exercido pelas auxinas no crescimento celular, conforme visto antes, elas estão envolvidas no controle da diferenciação celular. Um exemplo disso é a diferenciação vascular que ocorre nos eixos caulinares em virtude dos níveis de auxina produzida nas folhas jovens em processo de desenvolvimento. Em *Coleus*, a formação de xilema (xilogênese) na base do pecíolo é diretamente proporcional ao fluxo difusível de AIA que se move no sentido limbo-pecíolo. O desfolhamento do epicótilo dessa planta reduziu intensamente a xilogênese. Entretanto, esse efeito pôde ser revertido com a aplicação de quantidade equivalente de auxina.

A continuidade do tecido xilemático ao longo do vegetal resulta do transporte polar de auxina proveniente do ápice, movendo-se para as raízes. O nível endógeno desse hormônio controla o início da diferenciação de elementos vasculares. Em tecidos lesados mecanicamente, a rediferenciação de células do parênquima em elementos condutores também é induzida por auxina. Normalmente, quando há a interrupção de um feixe vascular em consequência de um ferimento, ocorre a revascularização da região próxima, de tal modo que as células vizinhas do ferimento se desdiferenciam, formando, posteriormente, novos elementos vasculares (xilema ou floema). Esses elementos podem restabelecer a continuidade do feixe original. Uma das teorias propostas para explicar a rediferenciação é a chamada hipótese da canalização do sinal, segundo a qual a canalização do fluxo de auxina por determinadas células seria o fator determinante na formação de novos elementos de transporte. A Figura 9.20 mostra que, inicialmente, todas as células ao redor do feixe vascular lesado teriam a mesma capacidade de transportar auxina; todavia, gradualmente, certas células se tornariam

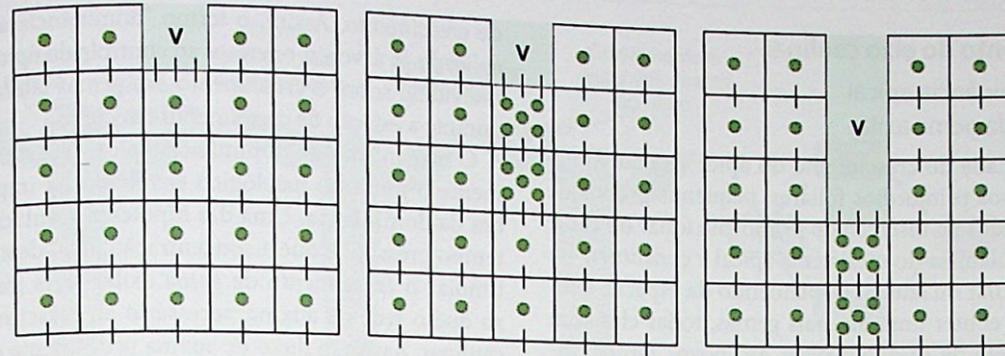


Figura 9.20 Hipótese da canalização do sinal. À esquerda, células adjacentes ao elemento de transporte rompido (V) têm capacidade similar de transporte de auxina (círculo). Ao centro, uma célula na posição terminal do elemento injuriado torna-se mais eficiente para o transporte de auxina (pequenas barras verticais). À direita, melhores células transportadoras de auxina se diferenciam em tecido vascular.

mais competentes para esse transporte, aumentando o fluxo de auxina transportada, basicamente, as quais se diferenciariam, então, em tecido vascular.

Um modelo de estudo muito interessante de rediferenciação foi estabelecido a partir de células isoladas do mesofilo de *Zinnia elegans* cultivadas *in vitro*. Essas células, em resposta à aplicação de auxina, transformam-se em elementos traqueais. Nesse caso, a presença de citocinina também se mostrou necessária, aumentando, talvez, a sensibilidade dessas células à ação da auxina. Todo o processo de rediferenciação pode ser acompanhado em uma única célula, como mostrado na Figura 9.21. Nesse exemplo, a rediferenciação é iniciada com o processo de desdiferenciação, seguida por uma nova diferenciação celular. Assim, a célula do mesofilo perde sua capacidade fotossintética e seu conteúdo celular, ao mesmo tempo que se alonga e produz a parede secundária. Esses eventos parecem corresponder aos

mesmos processos verificados *in vivo*, nos quais células meristemáticas apicais originam as células procambiais, e estas, por sua vez, transformam-se diretamente em elementos traqueais. Atualmente, esse modelo vem sendo empregado em pesquisas sobre a expressão gênica específica relacionada com a diferenciação xilemática. A diferenciação dos elementos traqueais constitui um exemplo típico de morte celular programada em vegetais, ainda em um estágio bastante precoce do desenvolvimento. Os elementos traqueais maturam, após a perda dos conteúdos citoplasmático e nuclear, por meio da ação de enzimas hidrolíticas, como DNases, RNases e proteases. Por meio da digestão parcial das paredes primárias, poros se abrem na extremidade de cada elemento de vaso, os quais estão longitudinalmente alinhados, formando um longo tubo de condução. O processo de morte celular acontece simultaneamente à formação das paredes secundárias.

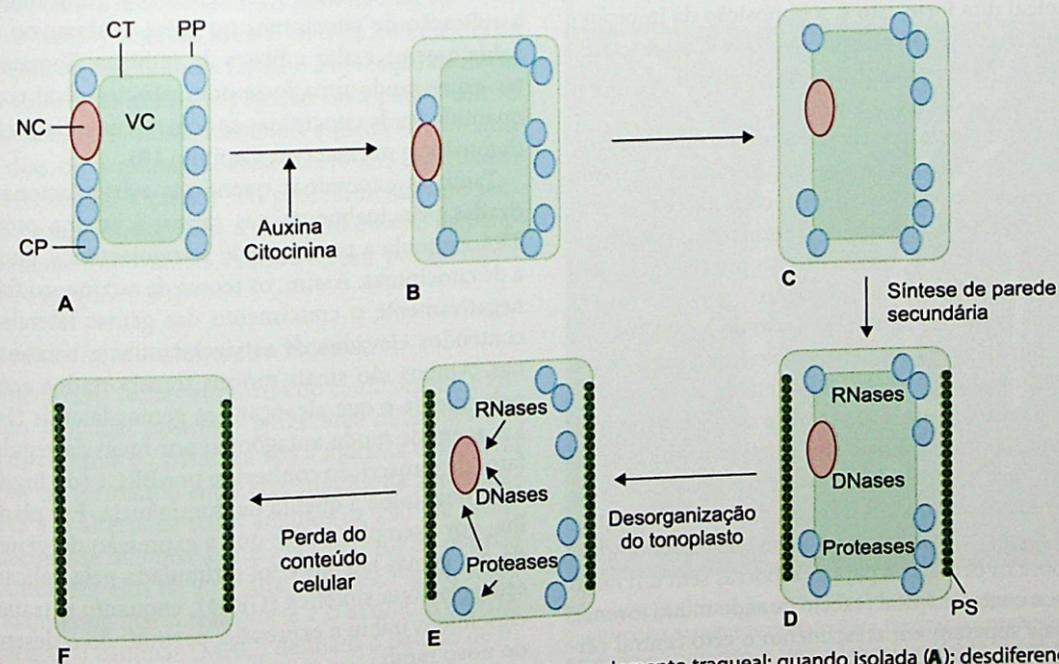


Figura 9.21 Rediferenciação de uma célula isolada do mesofilo de *Zinnia* em elemento traqueal: quando isolada (A); desdiferenciada pela ação da auxina (B); célula alongada precursora do elemento traqueal imaturo, possibilitando a ação das enzimas hidrolíticas no vacúolo (D); elemento traqueal maduro, com perda total do conteúdo celular (F). CP: cloroplasto; CT: citoplasma; NC: núcleo; PP: parede primária; PS: parede secundária; VC: vacúolo.

## Desenvolvimento do eixo caulinar

## Quebra da dominância apical e crescimento da gema axilar

Com a continuidade do crescimento do ápice vegetativo e a formação de novos primórdios foliares, pequenos grupos de células posicionados na inserção do primórdio foliar no caule (região axilar) isolam-se do meristema apical e constituem-se em uma gema axilar ou lateral. Dependendo da espécie, a região axilar pode conter uma ou mais gemas, todas elas com potencial suficiente de se desenvolver em novos ramos; todavia, apesar disso, a maioria delas permanece dormente por todo o ciclo de vida da planta.

A remoção do ápice caulinar induz a retomada de crescimento da gema lateral, fazendo dessa prática, conhecida por despontamento ou decapitação, uma técnica comum entre os horticultores para obtenção de plantas ramificadas, em forma de touceira ou, ainda, em miniatura, como o bonsai. A inibição do crescimento da gema axilar pela apical, isto é, o controle exercido pelo ápice vegetativo sobre o desenvolvimento da gema lateral, é conhecido como *dominância apical*, *inibição correlativa* ou *paradormência*.

Nos dias e semanas subsequentes à remoção do ápice, isto é, depois da quebra da dominância, pode-se quantificar o alongamento da gema lateral, observando o desenvolvimento de um novo ramo.

O grau de imposição da inibição pode variar bastante entre as plantas herbáceas, indo da quase inexistência – situação na qual a gema lateral cresce mesmo na presença do ápice, como acontece na bromélia epífita *Tillandsia recurvata*, cuja dominância é, portanto, fraca –, passando pela imposição da inibição intermediária ou parcial – caso em que a gema lateral cresce até certo ponto, mesmo sem haver a decapitação –, até a dominância apical dita forte, isto é, a imposição da inibição é completa, como acontece em plantas de girassol, tradescância e *Ipomoea*. Nessas últimas plantas, a quebra da dominância somente ocorre após a decapitação.

A quebra da dominância apical pode ser induzida pela aplicação direta de citocinina sobre a gema lateral ou, de modo contrário, ser revertida pelo tratamento com auxina no ápice decapitado. Logo após a perda da dominância, inicia-se o crescimento da gema lateral, que começa a produzir sua própria auxina, aumentando seu alongamento.

Para as plantas arbóreas, prefere-se o uso do termo *controle apical* ao de dominância, já que seria um conceito mais amplo que inclui o controle do ápice sobre a orientação dos ramos laterais e folhas, dando origem à arquitetura da copa da árvore. Para as coníferas, como o pinheiro de Natal, um único ramo central tem um forte controle apical sobre os demais. Se o pinheiro for despontado, então um dos ramos mais próximos ao ápice toma seu lugar, curvando-se verticalmente e assumindo a dominância sobre os demais. Já para as arbóreas sem um ramo líder e com fraco controle apical (exceto quando muito jovens), os ramos laterais superam em crescimento o eixo central original, dando a forma arredondada à árvore. Ao se considerar individualmente cada ramo, este tem forte dominância apical sobre as gemas laterais contidas nele próprio, inibindo o seu crescimento até a primavera seguinte ou a próxima estação

de crescimento. Assim, o termo “dominância apical”, quando aplicado às árvores, refere-se ao controle do ápice de um galho individual sobre o crescimento das gemas laterais desse ramo durante a estação de crescimento em curso.

O mecanismo da dominância apical representa particularmente o processo fisiológico envolvido na imposição e quebra da dominância. Uma das hipóteses aventadas há bastante tempo pressupõe que a concentração ideal de auxina para estimular o crescimento da gema axilar seria muito mais baixa que o teor de auxina necessário ao crescimento do ápice caulinar. Assim, o fluxo de auxina proveniente do ápice e que segue para a região basal da planta poderia inibir o desenvolvimento da gema axilar por estar em uma concentração acima da ideal. A remoção da fonte de produção desse hormônio (decapitação) reduz o fornecimento de auxina na região da gema lateral, liberando-a da inibição. Outros hormônios, principalmente citocininas, estrigolactonas e ácido abscísico (ABA), podem também estar envolvidos com o mecanismo da dominância. Atualmente, acredita-se que a exportação de auxinas a partir da gema lateral se correlaciona com o início de seu crescimento; portanto, para a ativação de seu desenvolvimento, elas precisam estabelecer um fluxo de auxina (hipótese da canalização do AIA) que seguiria para a região do caule onde o transporte polar acontece basipetamente. Para estabelecer esse fluxo, proteínas PIN devem ser sintetizadas, possibilitando esse transporte de AIA da gema lateral para o caule, criando, assim, o sistema vascular que ligará o novo ramo ao caule. As estrigolactonas, entretanto, inibem a quebra da dominância apical por afetar negativamente a síntese das proteínas PIN, dificultando a canalização do sinal do AIA a partir das gemas laterais.

As citocininas, no entanto, podem antagonizar o efeito inibitório das auxinas e estrigolactonas. Em muitas espécies, a aplicação de citocininas no ápice caulinar ou diretamente sobre a gema axilar a libera da inibição. Tomateiros mutantes expressando uma forte dominância apical contêm baixas quantidades de citocininas endógenas em relação àqueles com dominância normal (ver Capítulo 10).

Tanto as citocininas quanto as estrigolactonas são sintetizadas principalmente nas raízes; a auxina proveniente do TPA estimula a produção de estrigolactonas, enquanto inibe a de citocininas. Assim, os teores de auxina, ao final, regulam negativamente o crescimento das gemas laterais, mantendo conteúdos elevados de estrigolactonas e baixos de citocininas. Ambos são sinais móveis transportados acropetamente pelo xilema e que alcançam as gemas laterais (Figura 9.22). Lá, agem de modo antagônico por meio da regulação de um fator de transcrição conhecido por BRC1 (do inglês, *branched 1*), o qual inibe a quebra da dominância. Em plantas de ervilha, por exemplo, viu-se que a expressão do gene *PsBRC1* se dá nas gemas laterais e foi estimulada pela aplicação de uma estrigolactona sintética (GR24), enquanto o tratamento com citocininas inibiu a expressão, permitindo o desenvolvimento do novo ramo.

Há ainda evidências de que as plantas controlam a quantidade de novos ramos (ramificações), regulando o conteúdo de açúcar transportado para a gema axilar. A sacarose parece estar envolvida com essa regulação, fornecendo carbono e

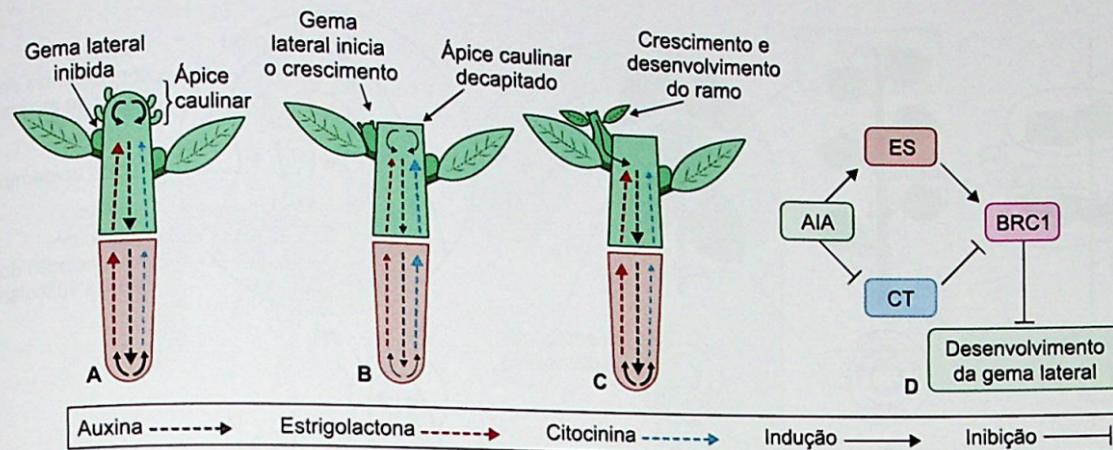


Figura 9.22 Estágios do desenvolvimento da dominância apical antes e depois da decapitação do ápice caulinar. A. Imposição da inibição do desenvolvimento da gema lateral (dominância apical). Após a decapitação (quebra da dominância apical), tem-se o início do crescimento da gema axilar no segmento induzido (B) e o subsequente desenvolvimento de um novo ramo (C). O AIA produzido no ápice caulinar é transportado em direção à raiz, onde regula positivamente a síntese de estrigolactonas (ES) e negativamente a de citocininas (CT). D. ES e CT são transportadas em direção ao ápice caulinar, agindo diretamente na gema lateral e sobre seu desenvolvimento por meio da regulação do fator de transcrição BRC1. Note que os tipos das setas indica a quantidade relativa dos hormônios nos caules e raízes.

induzindo o transporte e a canalização do sinal do AIA, formando o sistema vascular do novo ramo.

Estudos têm mostrado uma correlação entre a inibição do crescimento da gema axilar e o teor de ABA na gema. Em feijoeiro decapitado, por exemplo, a concentração de ABA na gema foi inferior à do controle intacto. Já a aplicação de auxina no ápice cortado substitui o efeito do ápice, prevenindo a diminuição do conteúdo de ABA. Assim, as abordagens hormonais sobre dominância apical devem sempre considerar o balanço endógeno entre auxinas/citocininas e de ácido abscísico/citocininas, suas concentrações relativas no tecido vegetal, visando a uma melhor compreensão da função.

A cultura de tecidos vegetais utiliza-se, frequentemente, da prática da quebra da dominância visando à obtenção de novas plantas. Essa técnica de micropropagação isola para o cultivo porções caulinares diminutas, contendo a gema lateral, que, após alguns dias ou semanas, se desenvolve em uma planta completa (eixo caulinar e raízes). Tal procedimento vem sendo empregado, amplamente, para a clonagem *in vitro* de plantas comercialmente importantes, como é o caso, por exemplo, do abacaxizeiro (Figura 9.23).

## Formação dos primórdios foliares e filotaxia

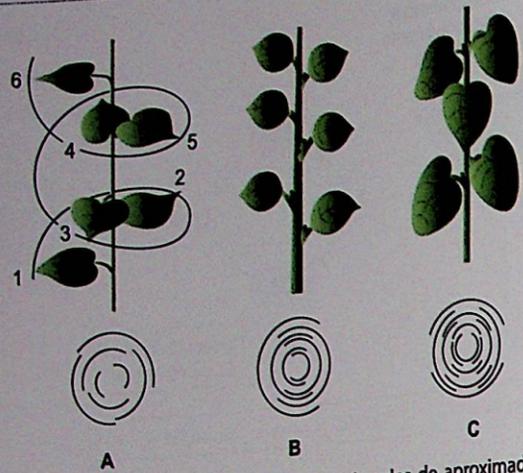
O posicionamento das folhas em torno do caule vegetal é conhecido como filotaxia, podendo apresentar diferentes padrões. Os mais comuns na natureza são a filotaxia em espiral (uma folha por nó formando entre elas ângulos de aproximadamente  $137,5^\circ$ ), a alternada (com ângulos de  $180^\circ$  de divergência) e a decussada ou oposta cruzada (duas folhas opostas por nó, formando ângulos de  $90^\circ$  entre os pares; Figura 9.24). Sugere-se, atualmente, que o transporte e o acúmulo de AIA no meristema apical caulinar (MAC) definam o padrão de filotaxia vegetal.

Estratégias interessantes foram adotadas para visualizar as rotas de transporte do AIA e seus padrões de acúmulo. Por meio do monitoramento da localização subcelular das proteínas PIN no MAC, isto é, utilizando a técnica de imunolocalização

que emprega anticorpos dirigidos contra essas proteínas, foi proposto um modelo que explica a regulação da formação dos primórdios foliares e a filotaxia. De acordo com essa hipótese, as auxinas são transportadas pelas células epidérmicas em direção ao MAC (sentido base-ápice), resultando em um ponto de convergência dos fluxos de auxina, o qual determinará o local da formação do primórdio foliar (Figura 9.25). Uma vez este estabelecido, o AIA passa a ser transportado no sentido basípeto (ápice-base) pelos tecidos internos imaturos do primórdio, onde gradualmente induz a formação dos tecidos vasculares, isto é, células com um aumento no fluxo de auxina



Figura 9.23 Obtenção de mudas de abacaxizeiro por meio do cultivo *in vitro* de segmentos nodais. Para facilitar a obtenção dos explantes caulinares contendo a gema lateral, a planta de abacaxizeiro, cujo caule é muito reduzido (A), é submetida previamente a um período escuro para que o caule se alongue (processo de estiolamento; B) e, como consequência, aumente a distância entre os seus nós. Segmentos nodais de aproximadamente 1 cm são cortados (C) e cultivados por 3 meses até o desenvolvimento de uma nova planta (D).



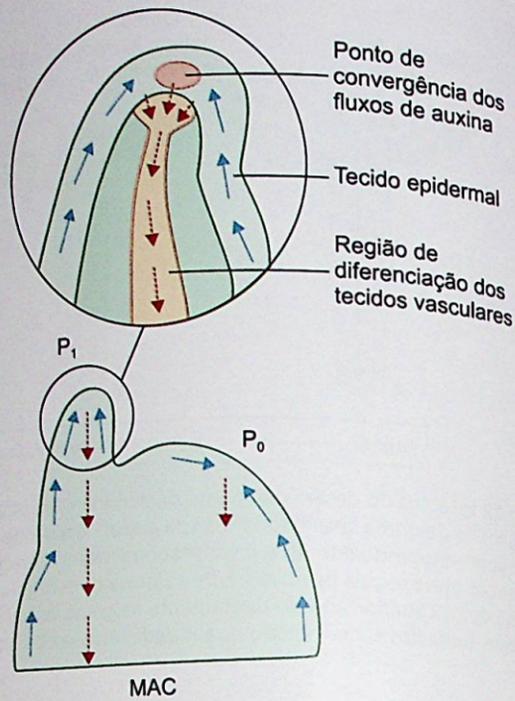
**Figura 9.24** Padrões de filotaxia: espiral – ângulos de aproximadamente 137,5° (A); alternada – uma folha por nó com ângulo de divergência de 180° (B); decussada ou oposta cruzada – duas folhas opostas por nó com ângulos de 90° entre os pares (C).

se diferenciam em xilema e floema (hipótese da canalização). Observou-se que as proteínas PIN estão localizadas na face apical das células epidérmicas, isto é, em direção ao ponto de convergência; já nas subepidérmicas, estão na face basal. Postula-se que a região interna central do primórdio drena grande parte do AIA, resultando em uma diminuição de sua concentração nos tecidos adjacentes. Um novo local de acúmulo somente surge a certa distância do primórdio pre-existente, permitindo que o padrão de filotaxia se estabeleça. Concomitantemente ao crescimento da lâmina foliar, há a formação da nervura principal, que está associada, portanto, ao ponto de convergência do transporte de auxina nas células da epiderme da margem do primórdio (Figura 9.25).

**Formação do gancho apical**

Durante o desenvolvimento do eixo caulinar de plântulas de dicotiledôneas, forma-se uma curvatura logo abaixo do ápice caulinar, a qual é conhecida por *gancho apical* ou *gancho plumular*. Sua presença facilita a passagem da plântula pelo solo até sua emergência, protegendo o meristema apical de possíveis lesões mecânicas durante o seu crescimento.

Essa curvatura tem sua origem em um crescimento diferencial entre o lado interno do gancho (face côncava) e o lado externo (face convexa), o qual cresce mais rapidamente. Na formação do gancho em plântulas de feijoeiro, demonstrou-se que a distribuição desigual do AIA tem um papel muito importante, já que esse hormônio é transportado assimetricamente do ápice para o hipocótilo, sendo então encontrado em maior proporção no lado interno do gancho. A atividade das proteínas transportadoras PIN resulta em um transporte preferencial da auxina do lado externo do gancho para o lado interno, onde seria acumulada. Esse acúmulo de AIA induz a síntese de outro hormônio, o etileno, cuja concentração é também maior nesse mesmo lado, inibindo a taxa de alongamento das células dessa região. Além disso, o tecido do lado interno é mais responsivo ao etileno. O etileno, por sua vez, modifica o transporte polar simétrico do AIA, por meio da localização preferencial das proteínas PIN na parede lateral



**Figura 9.25** Diferentes direções que o fluxo de auxina pode assumir e a localização do aparecimento dos primórdios foliares. Nas células epidérmicas do MAC, os fluxos de auxina vão em direção acrópeta (da base para o ápice) e, então, em direção basípeta, determinando o local de formação do novo primórdio foliar (P<sub>0</sub>). A partir do P<sub>0</sub>, a auxina é transportada basipetalmente pelos tecidos internos, onde esse hormônio induz, gradualmente, a formação das nervuras. O primórdio P<sub>1</sub> drena a auxina das áreas circunvizinhas, transportando-a no sentido basípeta pelo sistema vascular em diferenciação.

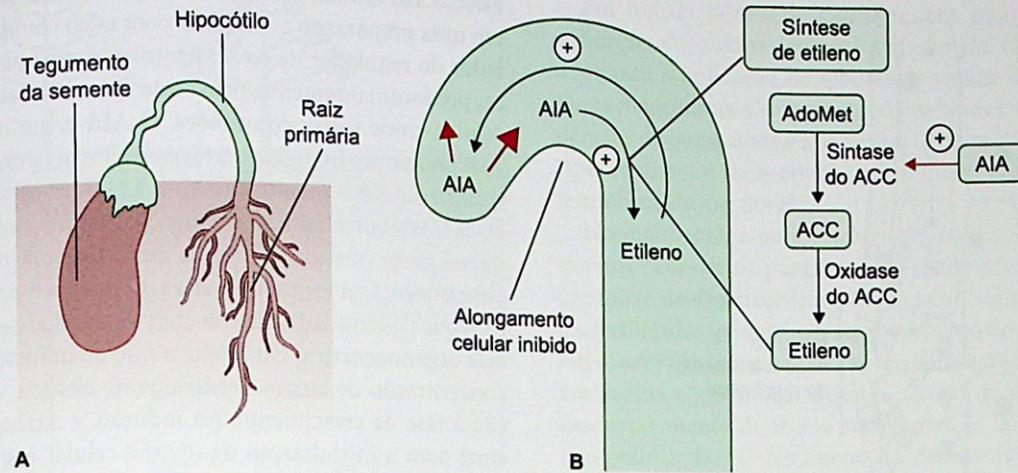
das células do córtex, favorecendo o fluxo da auxina para as células da região interna do gancho. Um efeito do tipo retroalimentação positiva garante a manutenção do gancho (Figura 9.26). Mais recentemente, observou-se que as giberelinas regulam também a atividade das PIN, tornando-as mais ativas no lado interno do gancho, por meio de sua fosforilação. Assim, parece muito provável que as giberelinas também ajudem a manter a assimetria da distribuição da auxina no gancho, junto ao etileno.

Entretanto, quando a plântula rompe a barreira do solo e encontra a luz, esta inibe a manutenção do gancho apical, permitindo que o caule adquira seu crescimento fototrópico normal. O gradiente de auxina estabelecido durante a fase de formação do gancho desaparece durante a sua abertura.

**Desenvolvimento radicular**

O conteúdo de auxina da raiz primária tem origem principalmente no transporte polar desse hormônio da parte aérea; todavia, existe também em escala relativamente menor a síntese *de novo* no próprio ápice da raiz. O nível de auxina resultante dessas duas vias é, então, adequado para proporcionar o crescimento das células radiculares em um processo de desenvolvimento normal.

As raízes laterais são normalmente formadas acima (tomando-se o ápice radicular como referência) das regiões de alongamento e de maturação (porção onde aparecem os pelos radiculares) na raiz primária. Certas células da camada do periciclo, responsivas à auxina, iniciam o processo de divisão

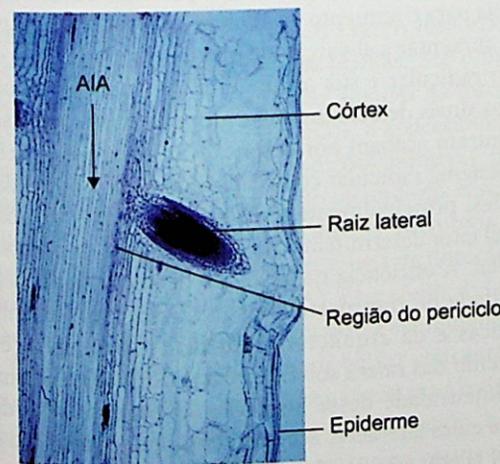


**Figura 9.26** A. Plântula de feijoeiro com formação de gancho apical. B. Esquema indicativo dos fatores hormonais envolvidos na formação do gancho apical. Uma distribuição desigual de AIA promove níveis indutores da síntese de etileno de um dos lados do hipocótilo, causando a inibição do alongamento das células dessa região. O AIA age positivamente sobre a regulação do nível da enzima sintase do ACC, que catalisa uma etapa limitante da síntese do etileno. AdoMet: adenosilmetionina; ACC: ácido carboxílico aminociclopropano.

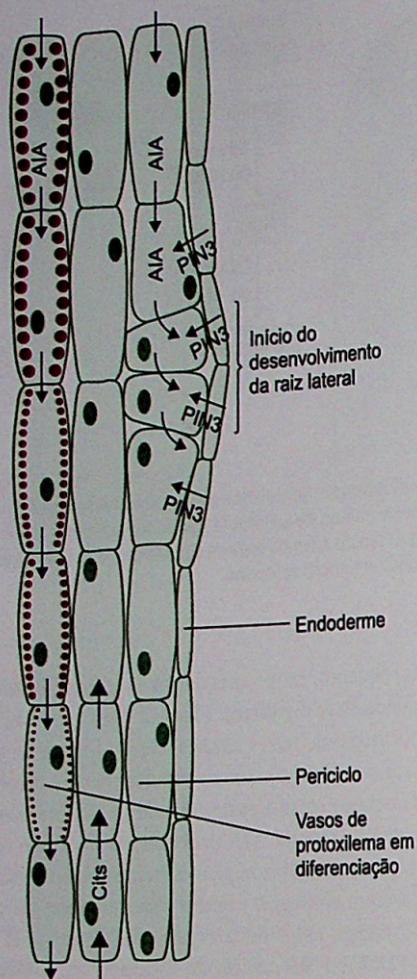
celular, formando o primórdio da raiz lateral. Este se desenvolve atravessando radialmente o córtex e emergindo através da epiderme (Figura 9.27). A nova raiz lateral se alonga e se desenvolve, conectando-se com os tecidos vasculares da raiz primária. Ainda não se tem explicação para o fato de apenas algumas células do periciclo conseguirem responder à auxina e iniciar a formação de raízes laterais. O que se observa é que somente as células aptas a interpretar o sinal indutor dado pela auxina iniciam a formação de novos primórdios radiculares, e, talvez, essa capacidade seja fruto de um estado de aptidão estabelecido muito cedo no desenvolvimento radicular, ou seja, em células derivadas do meristema que farão parte da camada do periciclo. Conforme a espécie, as raízes laterais derivam das células do periciclo adjacentes às células do polo xilemático, como em *Arabidopsis*, *Raphanus sativus* (rabanete) e *Heliantus annuus* (girassol). Essas células são ditas “semimeristemáticas”, com base na caracterização de sua ultraestrutura

(vacúolos pequenos, citoplasma denso e muitos ribossomos) e na capacidade de se dividirem. Elas são consideradas competentes à formação de raízes laterais. Nelas, forma-se um máximo de concentração de auxina, resultante da expressão aumentada de transportadores de entrada (AUX) nessas células do periciclo que captará AIA proveniente do ápice caulinar, movendo-se em direção ao ápice radicular. Além disso, essas células parecem conseguir manter esse máximo de concentração de auxina, ativando a expressão do gene de síntese de AIA (*YUCCA*). Nas células da endoderme, adjacentes às células do periciclo e iniciadoras do primórdio radicular, há aumento das proteínas PIN3 localizadas na membrana plasmática voltada ao periciclo, transportando auxina para as células desse tecido formador de raízes laterais (Figura 9.28). Esse rápido incremento no teor de AIA estimula a divisão celular em células responsivas ao AIA do periciclo e, consequentemente, a formação do primórdio radicular adjacente aos vasos de protoxilema em diferenciação. Por sua vez, as citocininas, que inibem a iniciação de raízes laterais, originam-se na coifa e movem-se em direção ao ápice caulinar pelas células do cilindro vascular da raiz lateral e o ápice radicular é regulada pela concentração de citocininas. O alto teor desse hormônio na coifa antagoniza a ação do AIA, inibindo a formação da raiz lateral na proximidade do ápice radicular. Acima da zona de alongamento, onde a concentração de citocininas diminui, o primórdio radicular se forma.

As raízes adventícias, por sua vez, se desenvolvem a partir de órgãos aéreos (caules/folhas), podendo originar-se de grupos de células maduras de vários tecidos, como do periciclo, das células parenquimáticas do xilema e floema ou de células do câmbio interfascicular. Tanto em monocotiledôneas quanto em eudicotiledôneas, as raízes adventícias podem aparecer naturalmente em resposta a mudanças ambientais (p. ex., na condição de alagamento) ou artificialmente em resposta a lesões nos tecidos ou à aplicação de reguladores de crescimento. Essas células entram no ciclo celular, retomando a capacidade



**Figura 9.27** Corte longitudinal de raiz primária de *Eichhornia* mostrando o desenvolvimento de uma raiz lateral. Algumas células do periciclo, competentes a iniciar divisões celulares induzidas por AIA, formam o primórdio da raiz lateral.



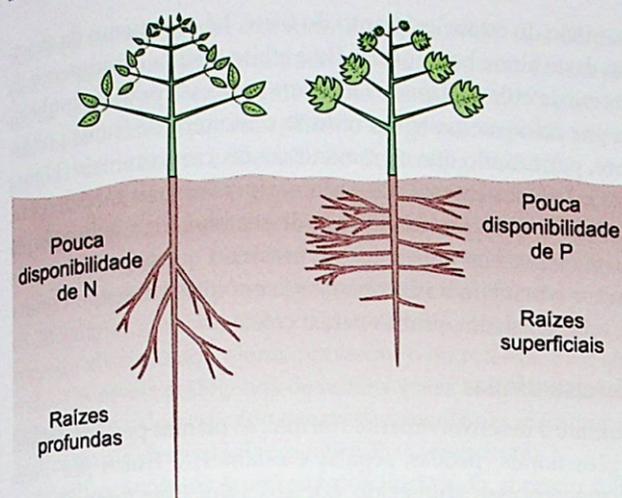
**Figura 9.28** Modelo de regulação da formação de raízes laterais mediada por auxinas. O transporte polar do AIA (setas pretas) ocorre por células do sistema vascular, diferenciando os elementos de vaso (marcado em vermelho, o gradual espessamento da parede secundária) e mantendo a identidade meristemática das células do periciclo. Durante a diferenciação dos vasos xilêmicos, há acúmulo de AIA a certa distância do ápice, causado por um transporte aumentado de AIA para as células competentes à formação da futura raiz lateral. O aumento da concentração de AIA induz a divisão celular e o surgimento do primórdio radicular. As citocininas (setas cinza), transportadas da coifa em direção acrópeta, inibem a iniciação de raízes laterais em regiões próximas ao ápice radicular.

de se dividirem, formando, assim, um meristema radicular de maneira análoga à formação das raízes laterais. Em horticultura, o efeito indutor da auxina tem sido muito utilizado na propagação vegetativa de plantas por estaquia. Folhas ou estacas caulinares de várias plantas, quando colocadas em água ou em um substrato úmido, normalmente formam raízes adventícias próximas à região do corte. O enraizamento acontece em decorrência do acúmulo de AIA na porção imediatamente superior ao corte, já que o transporte polar de auxina é interrompido nessa região. Esse efeito pode ser intensificado ao se tratar a superfície do corte com uma solução de auxina. Esta pode ser aplicada por alguns dias ou semanas em concentrações baixas (na faixa de micromolar), ou por alguns segundos ou minutos em níveis mais elevados (na faixa de milimolar). A exposição rápida é feita no caso de macropropagação, quando

estacas são enraizadas em solução de auxina concentrada ou em uma preparação a seco feita com talco como agente veiculador do regulador de crescimento. A auxina penetra na estaca, predominantemente, pelo corte e, uma vez absorvida pelas células, pode sofrer conversões. O AIA e, em menor grau, o AIB podem ser inativados irreversivelmente por oxidação, enquanto o ANA é menos suscetível a esse processo. Entretanto, essas três auxinas sofrem conjugação; assim, somente uma pequena parte (menos de 1%) da auxina absorvida pelo tecido permanecerá na forma livre ativa. O processo de enraizamento requer quantidades diferenciais de auxina, dependendo da fase organogênica. No início, a fase de indução requer uma concentração de auxina relativamente elevada, em comparação à fase de crescimento. Na indução, a auxina age como o sinal para a inicialização da divisão celular e a formação do novo meristema. Após a formação do primórdio radicular, a concentração de auxina, inicialmente favorável à sua indução, torna-se inibitória ao alongamento da raiz. Assim, o nível de auxina adequado à indução é supraótimo para a fase seguinte de crescimento. Para o enraizamento *in vitro* de microestacas caulinares de macieira, observou-se que a concentração de AIA no meio de cultura se reduz substancialmente, a partir do 5º dia, em razão da ação da enzima AIA-oxidase. Assim, nos primeiros dias de cultivo, o nível de AIA encontra-se relativamente elevado, induzindo a formação do primórdio radicular. Nos dias subsequentes, essa concentração diminui no meio, acarretando um nível mais baixo de AIA. Entretanto, essa redução traz o nível de AIA para a faixa de concentração necessária ao alongamento do primórdio, após sua emergência do caule. Outras auxinas estudadas, como o AIB e o ANA, por serem mais estáveis, promoveram concentrações supraótimas, inibindo o crescimento das raízes de macieiras.

### Mudanças na arquitetura radicular aumentam a eficiência nutricional

O volume total de solo explorado pelas plantas, com consequente absorção de nutrientes, é altamente determinado pela disposição espacial, pelo tamanho e pelo número de raízes. Portanto, a arquitetura radicular, isto é, a configuração tridimensional do sistema radicular das plantas, tem extrema importância para o aumento da eficiência nutricional. As plantas podem aumentar a absorção de nutrientes modulando o crescimento radicular e sua arquitetura. O *status* nutricional da planta os sinais detectados pelas próprias raízes no local onde se encontram acabam por desencadear alterações morfológicas no sistema radicular como um todo. A disponibilidade de nutrientes, principalmente a do nitrogênio (N) no solo, é o principal fator determinante do crescimento e da produtividade de vegetal. A eficiência na absorção desse nutriente depende da atividade de transportadores localizados nas membranas plasmáticas e da arquitetura radicular. As modificações do crescimento das raízes sob deficiência de N correlacionam-se com a intensidade dessa limitação. O comprimento da raiz primária e das laterais é, normalmente, aumentado sob escassez de N (Figura 9.29). No entanto, se a deficiência for muito grave, o desenvolvimento do sistema radicular atrasa, resultando em uma raiz primária curta e com número reduzido de raízes laterais. Levando em conta que os solos geralmente



**Figura 9.29** Arquitetura radicular em resposta à baixa disponibilidade de nitrogênio ou fósforo no solo.

são ambientes heterogêneos, caso a raiz encontre uma região (*patch*) com disponibilidade de N (principalmente na forma de nitrato), novas raízes laterais são produzidas, explorando aquele local de maior disponibilidade e aumentando a absorção do N. Hoje se sabe que a absorção de nitrato e o transporte de auxina apresentam mecanismos de percepção coincidentes, levando a alterações rápidas na arquitetura radicular.

Além do N, o fósforo (P) é geralmente considerado um dos macronutrientes mais limitantes do crescimento vegetal. Por sua baixa mobilidade no solo, a absorção desse nutriente depende muito da exploração do solo pelas raízes. Sob deficiência de P, modificações na arquitetura radicular são amplamente relatadas. Respostas de muitas espécies, incluindo *Arabidopsis*, arroz e milho, à escassez de fósforo são caracterizadas pela indução da formação de raízes laterais cobertas por muitos pelos radiculares e mais próximas à superfície do solo, já que esse nutriente é pouco móvel, formando um sistema radicular pouco profundo (ver Figura 9.29).

### Desenvolvimento de flores e frutos

A formação de flores e frutos é um evento importante para o desenvolvimento reprodutivo das plantas. Até o momento, não se conhece ao certo o papel das auxinas na formação de flores; na maioria dos casos estudados, a aplicação de auxina inibiu a produção de flores sob condições indutivas. Entretanto, essa inibição parece ser um efeito secundário, resultante da produção de etileno induzida pela auxina. Membros da família Bromeliaceae apresentam uma resposta de floração intensa quando tratados com auxina (ANA). Esse efeito, todavia, hoje se sabe, deriva do etileno, cuja formação é estimulada pela auxina. Em outros casos, a aplicação de baixas concentrações de auxina promove a formação de flores; entretanto, o significado fisiológico desse resultado é ainda desconhecido. É possível que as auxinas tenham alguma função em certos processos associados à evocação floral, isto é, a processos que ocorrem no meristema caulinar durante a transição para o estágio reprodutivo.

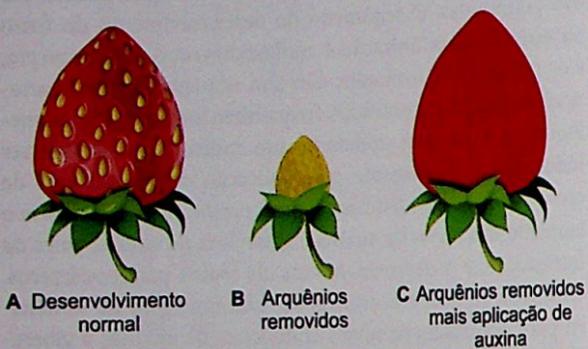
Em botões florais de *Cucumis*, em estágio bissexual, a aplicação de auxina leva à formação de flores femininas, enquanto a aplicação de giberelina resulta na formação de flores masculinas. Contudo, também nesse caso, existem evidências de que a auxina age por meio da produção de etileno. Apesar disso, é de aceitação geral que a auxina promove a feminilização em flores.

Normalmente, a polinização e a fertilização das flores são eventos necessários para iniciar o desenvolvimento do fruto (ou início do desenvolvimento do ovário). A presença de óvulos fertilizados garante o desenvolvimento do ovário em fruto. Foi observado que grãos de pólen representam uma fonte rica em auxina e giberelina, e que o extrato de pólen estimula o desenvolvimento de frutos em plantas da família Solanaceae não polinizadas. O fenômeno do desenvolvimento do fruto na ausência de polinização é conhecido como *partenocarpia*, e os frutos assim formados não têm sementes. Frutos partenocárpico são encontrados frequentemente em plantas melhoradas; nesse caso, podem ter um controle genético ou ser induzidos artificialmente pela aplicação de reguladores de crescimento. Há evidências de uma correlação positiva entre o aumento dos níveis de auxina e giberelina no ovário, antes da fertilização, e o desenvolvimento de frutos partenocárpico. Observou-se que, em ovários de uma linhagem de tomateiro partenocárpico, os níveis endógenos de auxinas e giberelinas eram maiores que os conteúdos encontrados na linhagem normal, isto é, com produção de sementes. Além disso, a aplicação de auxinas sobre a parte externa do ovário, antes da fertilização, em plantas das famílias Solanaceae, Cucurbitaceae e em *Citrus*, geralmente resulta no desenvolvimento de frutos partenocárpico. Levando em conta essas observações, há fortes evidências de que a partenocarpia resulte de uma regulação temporal e/ou espacial incorreta da síntese de auxina. Assim, uma ação sequencial e cooperativa entre giberelina e auxina faz parte da cadeia de transdução de sinal que leva ao estabelecimento da formação do fruto e à subsequente ativação da divisão celular (ver Capítulos 18 e 19).

No desenvolvimento normal de frutos, é geralmente aceito o fato de que o desenvolvimento da semente (ou do embrião) controla a taxa e a manutenção da divisão celular no tecido do fruto. Se alguns óvulos não se desenvolvem em determinada parte do fruto, este se torna defeituoso (Figura 9.30). Uma correlação positiva também existe entre o número de sementes e a manutenção do crescimento do fruto. O tamanho final do fruto é, em parte, resultante do número definido de divisões celulares que ocorrem no fruto em desenvolvimento depois da fertilização. Somam-se a isso o número inicial de células do ovário antes da fertilização, o número de fertilizações bem-sucedidas e o grau de expansão celular. Depois do período de divisão, o crescimento do fruto é resultante, principalmente, do aumento no volume celular. Na maioria dos frutos, o incremento de volume constitui o principal fator determinante do seu tamanho final. A expansão celular pode aumentar o tamanho inicial do ovário em cerca de 100 ou mais vezes. As auxinas são responsáveis pelo aumento na expansão celular em tecidos de frutos, embora, na maioria das vezes, a concentração de auxina seja maior na semente que nas células do fruto ao redor dela. As auxinas, provavelmente, causam

um aumento na extensibilidade das paredes celulares, culminando em uma maior absorção e retenção de água e solutos. Entretanto, é possível que a semente em desenvolvimento e/ou o embrião produzam outra molécula sinalizadora, além da auxina, que regularia a expansão e a atividade de dreno das células do fruto circunvizinhas às sementes. A ação conjunta de ambas as moléculas induziria o aumento de volume.

A auxina sintética ANA é comumente usada na agricultura para rarear árvores com frutos em início de desenvolvimento e, também, para prevenir a queda precoce deles em macieiras e pereiras. Esses efeitos, aparentemente opostos, são dependentes da aplicação de auxina em fases determinadas do desenvolvimento do fruto. Procedendo-se à aspersão de auxina



**Figura 9.30** A. Receptáculo de morango (pseudofruto), cujo crescimento é regulado pela auxina produzida pelos arquênios (pequenos frutos secos). B. Receptáculo cujos arquênios foram removidos não se desenvolve. C. Contudo, se for pulverizado com uma solução de AIA, retorna a crescer.

no início do estabelecimento do fruto, há o aumento da abscisão deste ainda bem jovem. Esse efeito resulta do aumento da síntese de etileno. Um dos motivos para essa prática, conhecida por *raleio*, consiste em reduzir o número de frutos por árvore, permitindo que os remanescentes cresçam mais (Figura 9.31). Diferentemente, fazendo a aspersão mais tardiamente, quando o fruto já está na fase de maturação, a aplicação de auxina tem efeito oposto, isto é, previne a queda prematura do fruto e o mantém na árvore até seu completo desenvolvimento, estando, assim, pronto para a coleta.

**Abscisão foliar**

Durante o desenvolvimento normal, as plantas perdem folhas, órgãos florais (pétalas, sépalas e estames) e frutos por meio de um processo conhecido por abscisão. Esse mecanismo é importante para a planta remover órgãos senescentes, ou lesados, ou, ainda, como uma estratégia para liberar os frutos quando amadurecidos.

A abscisão ocorre, na maioria dos casos, em uma camada de células anatomicamente distinta denominada zona de abscisão. Por exemplo, em folhas, essa zona está localizada na base do pecíolo, isto é, entre o órgão a ser removido e o corpo da planta. Essa camada é originada, geralmente, durante o início do desenvolvimento do órgão associado. A zona de abscisão varia quanto à sua espessura, podendo ser constituída por poucas até muitas camadas de células. Essas são normalmente caracterizadas como uma banda de células pequenas, com denso conteúdo citoplasmático. Sob condições apropriadas do meio ambiente ou do desenvolvimento, células da zona da



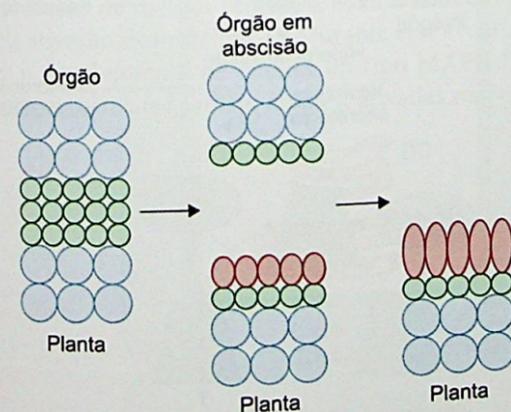
**Figura 9.31** Prática do raleio da cultura da macieira por meio da pulverização de auxina realizada na Estação Experimental de São Joaquim (EPAGRI) de Santa Catarina. A. Frutificação efetiva; efeito da aplicação da auxina ANA, reduzindo o número de frutos em desenvolvimento. B e C. A aplicação do ANA (10 mg/l) foi feita de 5 a 10 dias após a plena floração. D. Macieira que sofreu o raleio, permanecendo somente um fruto por

abscisão começam a se expandir e, então, inicia-se a dissolução da lamela média, resultando no aparecimento de um plano de fratura e, conseqüentemente, na queda do órgão. Um tecido de cicatrização suberificado surge no corpo da planta, no local onde houve a abscisão do órgão (Figura 9.32).

Estudos realizados com folhas pecioladas de feijoeiro, isto é, contendo a zona de abscisão, mostraram que o etileno e a auxina controlam o processo da abscisão. Verificou-se que o etileno representava o sinal primário que dirigia esse processo, enquanto a auxina reduzia a sensibilidade das células da zona de abscisão ao etileno, prevenindo ou retardando a abscisão. Os níveis endógenos de auxina eram mais elevados em folhas jovens, decrescendo progressivamente nas maduras, até praticamente desaparecerem nas folhas senescentes.

A aplicação de AIA em estágios iniciais da abscisão foliar geralmente atrasa a queda da folha; todavia, quando é feita em estágios mais avançados do desenvolvimento, ela acelera esse processo, provavelmente pela indução da síntese de etileno. Há indícios de que as folhas jovens são menos responsivas ao etileno que as mais velhas; além disso, teores elevados de auxina nas folhas jovens reduzem a sensibilidade da zona de abscisão ao etileno (Figura 9.33).

Além da participação dos hormônios auxina (regulador negativo) e etileno (estimulador da abscisão), atualmente, prevê-se a existência de outro componente da rede de sinalização da abscisão. Por meio de estudos com órgãos florais de *Arabidopsis*, um pequeno peptídeo (IDA, do inglês *inflorescence deficient in abscission*) possivelmente é secretado, ligando-se a um complexo de receptores (tipo RLK – *receptor-like kinases*) presente nas membranas plasmáticas, os quais são ativados, passando então a transmitir o sinal de ativação da abscisão por meio de uma cascata de MAP cinases. Essas, por sua vez, ativam fatores de transcrição (tipo KNOX) que, finalmente, induzem a transcrição de genes relacionados com modificações da parede celular, envolvendo enzimas de degradação responsáveis pela separação das células na zona de abscisão e queda do órgão.



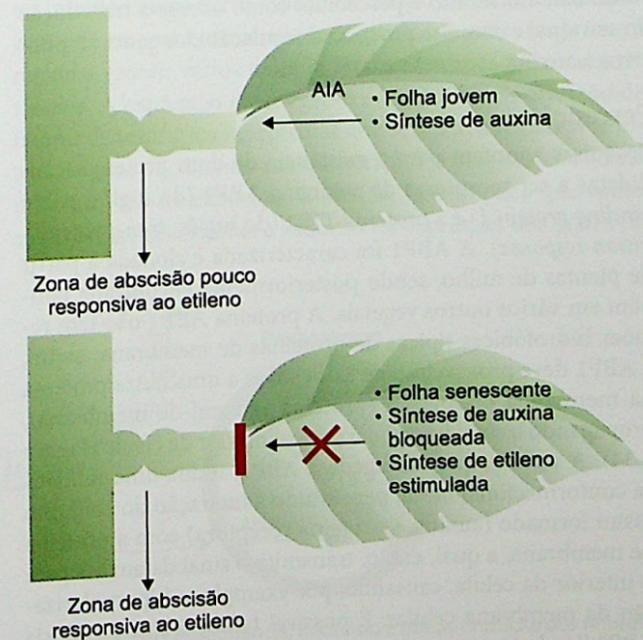
**Figura 9.32** Representação esquemática dos eventos associados à abscisão de um órgão. Círculos verdes representam células da zona de abscisão; círculos azuis representam células grandes, com vacúolo de abscisão; figuras ovais vermelhas representam células expandidas que se rediferenciam (transdiferenciação) em periderme suberificada (camada de cicatrização).

A agricultura moderna manipula o processo de abscisão obtendo vantagens econômicas quanto ao rendimento na produção e estocagem pós-coleta. Existe um tomateiro mutante, por exemplo, em que a mutação (*jointless*) eliminou a camada de abscisão da flor, produzindo um fruto que permanece ligado ao caule. Isso reduz a queda do fruto e faz com que o tomate seja colhido sem o pedúnculo e as sépalas, essas estruturas indesejadas na produção do molho de tomate. Diferentemente desse exemplo, algumas vezes acelerar a abscisão é interessante, como induzir o desfoliamento de plantas de algodão (por meio da aplicação de herbicida – ver próximo item deste capítulo) antes da coleta mecânica, aumentando, significativamente, a eficiência desse processo.

**Ação herbicida de auxinas sintéticas**

As auxinas sintéticas, como o 2,4-D, o dicamba e o picloram (ver Figura 9.4), quando em concentrações adequadas, apresentam atividade herbicida, sendo amplamente empregadas para esse fim. Em baixas concentrações, induzem respostas de crescimento comparáveis ao AIA. Esses compostos são comumente empregados no controle de ervas daninhas (eudicotiledôneas) em plantações de gramíneas. A utilização ampla desses herbicidas decorre do alto grau de fitotoxicidade, do custo relativamente baixo e de suas propriedades seletivas.

Essas auxinas causam epinastia das folhas, parada do crescimento caulinar e radicular e aumento da expansão radial. Após alguns dias, podem surgir tumores, seguidos por um amolecimento e colapso do tecido. Tanto a epinastia quanto o aumento da espessura dos caules são efeitos característicos do hormônio etileno; assim, espera-se que a síntese de etileno, induzida por essas auxinas, seja o fator responsável por esses efeitos. O etileno, por sua vez, estimula a biossíntese do ácido abscísico (ABA), que se acumula primeiro na folha e, depois, é transportado para toda a planta. O ABA inibe o crescimento



**Figura 9.33** Esquema representativo dos efeitos induzidos pela auxina e pelo etileno presentes em folhas jovem (A) e senescente (B).

por meio do fechamento estomático, limitando, portanto, a assimilação do carbono e, conseqüentemente, a produção de biomassa. Além disso, esse hormônio tem efeito inibitório sobre a divisão e o alongamento celular. Ao final, o ABA, em conjunto com o etileno, promove a senescência e a morte da folha e, posteriormente, do vegetal como um todo. Em experimentos nos quais se empregaram inibidores da síntese de etileno em várias eudicotiledôneas ou se utilizaram mutantes insensíveis ao etileno de tomateiro e *Arabidopsis thaliana*, verificou-se que o efeito herbicida de auxinas era muito reduzido ou mesmo ausente nessas condições.

O mecanismo de ação dos herbicidas não está totalmente desvendado, mas sabe-se que, sob ação do 2,4-D, por exemplo, o citoesqueleto de actina é severamente modificado, afetando a mobilidade das organelas, principalmente dos peroxissomos, os quais têm a função de remover as espécies reativas de oxigênio (ERO) do ambiente celular. Assim, o sistema antioxidante fica limitado, causando um estresse oxidativo muito forte, o que leva à destruição das membranas plasmáticas e à consequente morte celular. Os herbicidas aumentam a atividade de genes de biossíntese de ABA e etileno, acarretando um significativo aumento da produção de ERO.

**Mecanismo de ação**

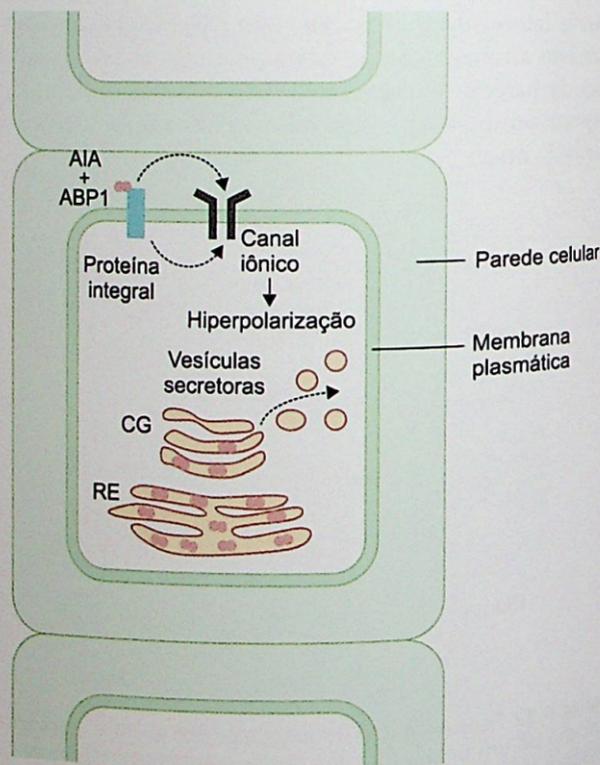
Conforme visto até agora, a auxina exerce um papel fundamental em uma vasta gama de processos de crescimento e desenvolvimento. No nível celular, esse fitormônio age como sinal para a divisão, o alongamento e a diferenciação durante o curso normal do ciclo vegetal. Tomando-se a planta como um todo, a auxina tem uma função importante na formação de raízes, na dominância apical, no tropismo, na senescência, entre outros processos. A questão crucial é saber como uma molécula simples, como o AIA, regula essa considerável diversidade de respostas de um conjunto de células, tecidos ou de órgãos. A resposta a essa dúvida requer conhecimentos sobre como esse hormônio é percebido, como ocorre a transdução do seu sinal e como se processa a regulação dos genes responsivos à auxina.

**Percepção**

Pesquisas apontam para a existência de duas proteínas candidatas a ser receptoras de auxina: a ABP1 (do inglês, *auxin binding protein 1*) e a proteína TIR1 (do inglês, *transport inhibition response*). A ABP1 foi caracterizada e clonada a partir de plantas de milho, sendo posteriormente encontrada também em vários outros vegetais. A proteína ABP1 não tem regiões hidrofóbicas típicas de proteínas de membrana; assim, a ABP1 deve provavelmente associar-se a uma outra proteína da membrana plasmática (proteína integral de membrana), propagando o sinal hormonal para o interior da célula (Figura 9.34). A auxina, quando ligada à ABP1, induz uma mudança conformacional nesta, permitindo a interação do conjunto assim formado (auxina + proteína receptora) com a proteína do interior da célula, causando, por exemplo, a hiperpolarização da membrana celular. É possível também que a própria ABP1 ligada à auxina interaja diretamente com canais iônicos da membrana.

Diferentemente do que se poderia imaginar, a maior parte da ABP1 está localizada no retículo endoplasmático (RE), e não na membrana plasmática, aparecendo também no complexo de Golgi (CG). Uma consequência dessa distribuição é que um número pequeno de receptores na superfície celular necessita de uma menor quantidade de auxina para interagir com todos eles, permitindo à célula ser mais sensível a baixos níveis hormonais. As proteínas ABP1 localizadas no RE e no CG, ao receberem a auxina, interagem com proteínas integrais de membrana dessas organelas, possivelmente causando a regulação da secreção de componentes de parede (polissacarídeos e glicoproteínas) necessários à célula em expansão (Figura 9.34).

Foram obtidas plantas transgênicas de tabaco com superexpressão constitutiva do gene *abp1*. Nesse material, observou-se que o tamanho das células foliares era triplicado, embora o fenótipo da planta como um todo permanecesse inalterado, indicando, assim, que a ABP1 tem sua função relacionada com o controle do alongamento celular. Investigação recente revelou que a ABP1 está também envolvida no controle do ciclo celular, provavelmente mediando a ação da auxina. A inativação funcional da ABP1 resultou na parada do ciclo em células cultivadas *in vitro* de tabaco. Há evidências de que a ABP1 tem uma função crítica, agindo tanto na passagem G<sub>1</sub>/S quanto na G<sub>2</sub>/M do ciclo celular. Assim, é provável que a ABP1 esteja relacionada com dois processos-chave do desenvolvimento vegetal: crescimento associado a divisão e expansão celular. Mais recentemente, foi proposta outra função para ABP1 ligada ao estabelecimento da polaridade celular. Isso envolveria a ativação de certos tipos de GTPases que afetam a organização do citoesqueleto.



**Figura 9.34** Modelo representativo das possíveis localizações do receptor de auxina ABP1 na célula vegetal e os efeitos associados à sinalização do AIA.

Dois grupos de pesquisadores identificaram outro receptor de auxina, denominado TIR1. O gene *tir1* foi clonado, inicialmente, em plantas de *Arabidopsis* tolerantes a inibidores de transporte de auxina, como o ácido naftilftalâmico (NPA), aspecto do qual vem sua denominação “resposta de inibição de transporte” (TIR). Entretanto, logo se verificou que a proteína TIR1 (pertencente à família de proteínas F-box de *Arabidopsis* que tem cerca de 700 membros) não estava envolvida com o transporte, mas sim com o mecanismo de ação de auxina. Demonstrou-se que TIR1 tem afinidade e especificidade para auxina, diferindo da ABP1 por ser uma proteína solúvel de localização nuclear, portanto iniciando respostas à auxina intracelular. A família proteica TIR1 faz a conexão direta entre auxina e controle da expressão de genes responsivos a esse hormônio.

**Transdução**

Após a interação com o receptor, o sinal hormonal deve ser conduzido dentro da célula, por meio de uma das numerosas vias alternativas, sendo a resposta final dependente de um caminho ou de uma combinação de várias rotas. Em vez de se ter uma via simples e linear de transdução de sinal, as moléculas sinalizadas formam redes complexas de rotas interconectadas.

O cálcio parece ser um mensageiro secundário importante na transdução de sinal de quase todos os hormônios; contudo, a sua função na intermediação da ação da auxina ainda não foi determinada. Há fortes evidências experimentais de que a auxina afeta o nível de cálcio livre intracelular, aumentando-o. Além disso, observou-se que a interação do cálcio com a proteína citosólica calmodulina está diretamente envolvida com a transdução de sinal da auxina no processo de alongamento celular. Da mesma forma, o potássio está intimamente ligado à expansão das células mediada por auxina.

Há ainda evidências de que proteínas-G (pertencentes à superfamília de GTP-ases) da membrana plasmática participem da transdução de sinal da auxina. Foi observado, em coleótilos de arroz, que o tratamento com auxina dobrava a quantidade dessa proteína em sua forma ativa, isto é, ligada a GTP, passando, então, a induzir positivamente outras enzimas, como a fosfolipase C.

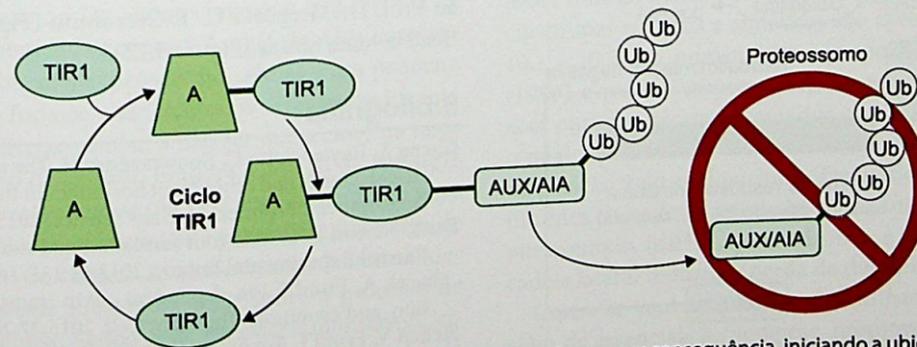
No processo de divisão celular, a auxina também parece agir pela ativação de proteínas-G. Durante esse evento, pode ocorrer o envolvimento de cinases do tipo MAPK (do inglês, *mitogen-activated protein kinase*), ativadas na presença

de auxina, iniciando uma cascata de reações de fosforilação. Além disso, sabe-se que a auxina participa da regulação do ciclo celular, primariamente estimulando a síntese de uma cinase dependente de ciclina, a CDK/a, cuja atividade é também regulada por fosforilação. Outro exemplo de transdução de sinal da auxina é o da regulação da degradação proteica.

Depois que a auxina se acopla ao receptor TIR1 (Figura 9.35), desencadeia-se a ativação de uma via de degradação proteica mediada por ubiquitina, uma via comum a todas as células eucarióticas. Esse sistema de degradação compreende um tipo de marcação da proteína a ser destruída, a qual se conjuga a pequenas proteínas chamadas de ubiquitina. Essa conjugação requer ATP e é realizada por meio de uma via multienzimática. Uma vez marcada, a proteína a ser destruída vai para o proteossomo nuclear (complexo proteico oligomérico extremamente grande, com massa molecular em torno de 1,5 megadalton). Um importante exemplo dessa via de degradação consiste na destruição de fatores de transcrição conhecidos por AUX/AIA (ver “Expressão gênica”), que são rapidamente degradados no proteossomo (Figura 9.35). A destruição de AUX/AIA leva à desrepressão de genes de resposta primária à auxina, já que esse fator de transcrição bloqueia a região promotora desses genes (ver “Expressão gênica”). A diversidade e a especificidade tecidual dos fatores de transcrição do tipo AUX/AIA podem explicar, em parte, as múltiplas respostas auxina-específicas.

**Expressão gênica**

Independentemente de quais forem os receptores e as rotas de transdução de sinal, a aplicação de auxina pode, rápida e especificamente, alterar a expressão de determinados genes em diferentes tecidos e órgãos. Respostas de modificação da expressão podem ser detectadas em questão de minutos ou em poucas horas após a aplicação de auxina. Os genes ativados ou inibidos nesse curto espaço de tempo são conhecidos por genes de resposta primária (do inglês, *early genes* ou *primary response genes*); vários deles já foram identificados e caracterizados. A expressão desses genes é induzida pela ativação de fatores de transcrição (proteínas que se ligam à região promotora do gene, facilitando sua transcrição) já presentes na célula no momento da exposição à auxina. Isso implica que todas as proteínas necessárias à indução da expressão dos genes de



**Figura 9.35** Modelo para o ciclo TIR1. A auxina (A) se liga ao receptor TIR1, ativando-o e, por consequência, iniciando a ubiquitinação dos fatores de transcrição Aux/AIA. Essas proteínas, uma vez marcadas por uma série de ligações com ubiquitina, serão degradadas no proteossomo. A diminuição de Aux/AIA acarreta a desrepressão de genes responsivos à auxina e o aumento da transcrição de genes regulados por AIA.

resposta primária estejam presentes na célula, razão pela qual a expressão acontece em um curto intervalo de tempo.

De modo geral, os genes de resposta primária têm três funções principais:

- Codificar proteínas que controlam a transcrição de genes de resposta secundária (do inglês, *late genes* ou *secondary response genes*), isto é, essas proteínas são fatores de transcrição de genes cuja expressão é modificada pela auxina em intervalo de tempo maior, comparativamente aos genes primários
- Codificar proteínas que atuam na comunicação intercelular
- Codificar proteínas que atuam na adaptação ao estresse.

Foram descritas ao menos cinco classes de genes de resposta primária: as famílias gênicas *aux/aia*, *saur*, *gh3*, os genes que codificam a sintase do ACC (enzima-chave para a biossíntese do etileno) e genes que codificam glutatona S-transferases. Os genes da família *aux/aia* codificam fatores de transcrição de curta duração, com localização nuclear, que têm a função de ativar ou reprimir genes de resposta secundária à auxina. Os genes das famílias *saur* e *gh3* estão relacionados com tropismos e com respostas da auxina reguladas por luz, respectivamente. Os genes que codificam S-transferases da glutatona e sintase do ACC estão relacionados com a adaptação ao estresse.

Com base em algumas evidências experimentais, foi proposto um modelo sobre a regulação da expressão gênica por auxina. A Figura 9.36 mostra a participação da auxina no controle da ativação da transcrição de um gene de resposta primária à auxina (p. ex., *aux/aia*) por dois tipos de fatores de transcrição: AUX/AIA (29 proteínas em *Arabidopsis*) e ARF (23 proteínas em *Arabidopsis*), isto é, por um fator de resposta à auxina (ARF, do inglês *auxin response factor*). Segundo esse modelo, os ARF ocupam permanentemente a região promotora de genes de resposta primária à auxina, independentemente

do nível de auxina. Essa região contém uma sequência específica de seis pares de bases, TGTCTC, conhecida pela denominação de elemento de resposta à auxina (AuxRE, do inglês *auxin response element*). Quando a concentração de auxina se encontra baixa nas células, as proteínas AUX/AIA estão estáveis, formando um heterodímero com o ARF na região promotora, bloqueando, em última instância, a transcrição gênica. Um correpessor denominado *topless* (TPL) atua em conjunto com AUX/AIA nessa função repressora. Quando os níveis de auxina aumentam, as proteínas AUX/AIA desestabilizam-se e são degradadas pelo processo de ubiquitinação, que culmina na ação de proteases. A redução na quantidade de proteínas AUX/AIA permite que as proteínas ARF se dimerizem, ativando a expressão dos genes regulados positivamente por auxinas. Observou-se que os genes de resposta primária podem ser rapidamente ativados em 2 a 5 min após a aplicação de auxina.

Dessa maneira, genes de resposta primária são transcritos, incluindo os genes *aux/aia*, introduzindo um controle por retroalimentação negativa ao sistema. Isso acarreta uma ativação transitória desses genes, que voltam a ser bloqueados depois de certo tempo, quando, provavelmente, os níveis de auxina também se reduzem. Entretanto, se, por meio de uma aplicação de auxina, os teores desse hormônio permanecerem elevados, a ativação da transcrição dos genes de resposta primária pode durar longos períodos (horas).

Alternativamente, os ARF poderiam também atuar como repressores de genes responsivos à auxina, os quais são regulados negativamente por altas concentrações de auxina. Nesse caso, a presença de um homodímero de ARF na região AuxRE do gene não permitiria sua transcrição.

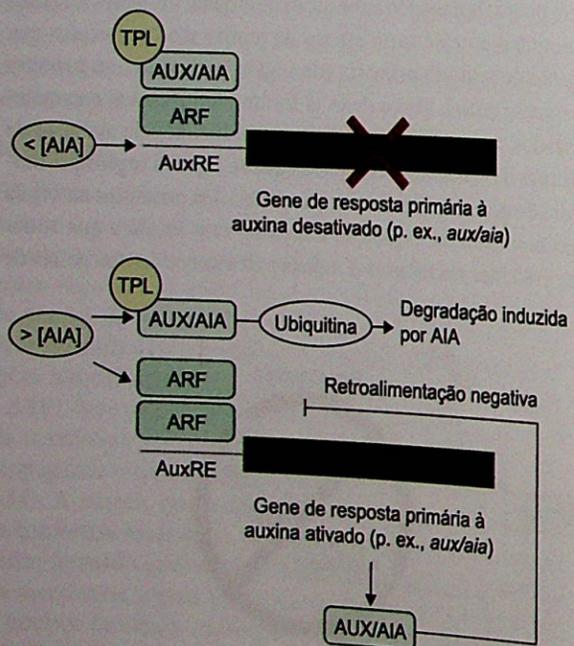
Certamente, a elucidação das funções de cada um dos genes (e respectivas proteínas), relacionando-os com a fisiologia celular, auxiliará a compreender como as células se comunicam e cooperam ao longo do crescimento e desenvolvimento vegetal.

### Agradecimentos

Agradeço a colaboração na execução das figuras à Dra. Cássia Ayumi Takahashi, à Dra. Catarina Carvalho Nievola e ao Dr. Paulo Marcelo Rayner Oliveira, assim como a permissão do uso das fotografias à Profa. Dra. Nanuza Luiza de Menezes (Figura 9.27), ao Dr. Adilson José Pereira (Figura 9.31), ao Prof. Dr. Gregório C. T. Ceccantini (Figura 9.12) e à Dra. Beatriz Maia Souza (Figura 9.23).

### Bibliografia

- Cheng X, Ruyter-Spira C, Bouwmeester H. The interactions between strigolactones and other plant hormones in the regulation of plant development. *Frontiers in Plant Science*. 2013;4 article 199.
- Du Y, Scheres B. Lateral root formation and multiple roles of auxin. *Journal Experimental Botany*. 2018;69:155-167.
- Maciek A, Friml J. Pin-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution. *The Plant Cell*. 2015;27:20-32.
- Steffen V, Friml J. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*. 2009;136:1005-16.
- Telchmann T, Muhr M. Shaping plant architecture. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6 article 233.



**Figura 9.36** Modelo de regulação da transcrição de genes de resposta primária à auxina por dois tipos de fatores de transcrição: proteínas AUX/AIA e por fatores de resposta à auxina (ARF).