

## UNIDADE XVIII – Etileno: O hormônio gasoso

1. Introdução
2. Estrutura, biossíntese e medição do etileno
3. Rotas de transdução de sinal do etileno
4. O etileno regula a expressão gênica
5. Efeitos do etileno no desenvolvimento e na fisiologia

### Introdução

- Durante o século XIX, quando o gás produzido pelo carvão era utilizado para a iluminação das ruas, foi observado que as árvores próximas às lâmpadas perdiam suas folhas de forma mais acentuada que as demais.
- Posteriormente, evidenciou-se que o gás do carvão e os poluentes atmosféricos afetavam o crescimento e o desenvolvimento vegetal, tendo o etileno sido identificado como um componente ativo desse gás.
- Em 1901, Neljubov observou que plantas de ervilha cultivadas no escuro, em laboratório, apresentavam a resposta tríplice: redução no alongamento do caule, aumento do crescimento lateral (intumescimento) e crescimento horizontal anormal.
- Quando cultivadas ao ar livre, as plantas recuperavam a morfologia e a taxa de crescimento normal.



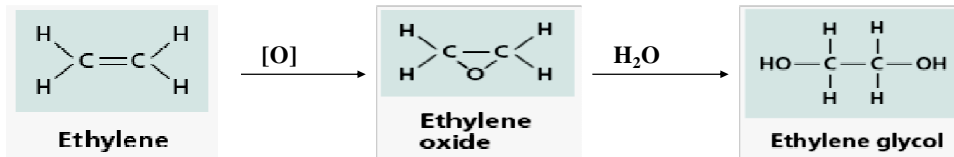
**FIGURA 22.1** Resposta tríplice em plântulas estioladas de ervilha. Plântulas com seis dias de vida foram cultivadas na presença de 10 ppm (partes por milhão) de etileno (direita) ou não tratadas (esquerda). As plântulas tratadas apresentaram intumescimento radial, inibição do alongamento do epicótilo e crescimento horizontal do epicótilo (diagravitropismo) (cortesia de S. Gepstein).

- **Neljubov identificou o etileno, proveniente do gás de carvão, presente no ambiente do laboratório, como a molécula causadora da resposta.**
- **A primeira indicação de que o etileno é um produto natural de tecidos vegetais foi publicada por COUSINS, em 1910, ao relatar que “emanações” das laranjas armazenadas em uma câmara provocavam o amadurecimento precoce das bananas. Hoje, sabe-se que laranjas produzem pouco etileno, sendo provável que as laranjas utilizadas por Cousins estivessem infectadas com o fungo *Penicillium* que produz grandes quantidades de etileno.**
- **Em 1934, GANE *et col.* identificaram quimicamente o etileno como um produto natural do metabolismo vegetal, o qual foi classificado como hormônio, devido aos seus drásticos efeitos sobre as plantas.**

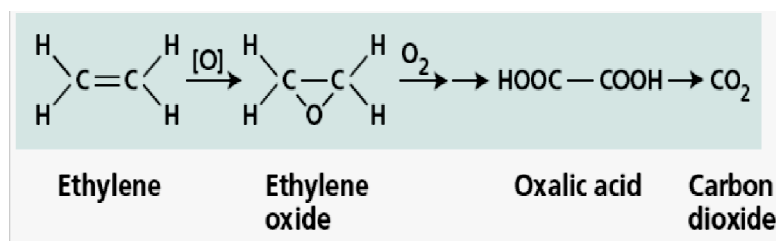
- Por 25 anos o etileno não foi reconhecido como um hormônio vegetal importante, principalmente, porque a maioria dos fisiologistas acreditava que os efeitos do etileno eram devidos à ação das auxinas.
- Contudo, após a introdução da cromatografia gasosa na pesquisa do etileno em 1959, foi redescoberta a importância desse fitohormônio e reconhecido seu significado fisiológico como regulador do crescimento vegetal, (Burg & Thimann, 1959).
- O etileno é um produto da combustão incompleta de compostos ricos em carbono (petróleo, carvão, gás natural, gasolina, óleo diesel).

## **Estrutura, biossíntese e medição do etileno**

**O etileno é uma olefina simples com massa molecular de 28 daltons.  
É inflamável e rapidamente sofre oxidação.**

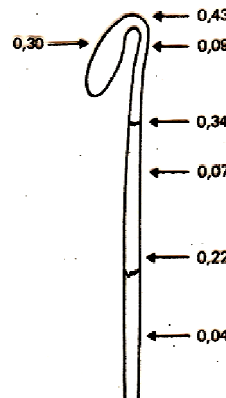


**Na maioria dos tecidos vegetais, o etileno pode ser completamente oxidado até CO<sub>2</sub>:**



**O etileno é amplamente produzido pelas angiospermas. Gimnospermas, pteridófitas, musgos, hepáticas, certas cianobactérias, fungos e bactérias também produzem etileno.**

**A produção de etileno por fungos e bactérias contribui bastante para o seu teor no solo.**

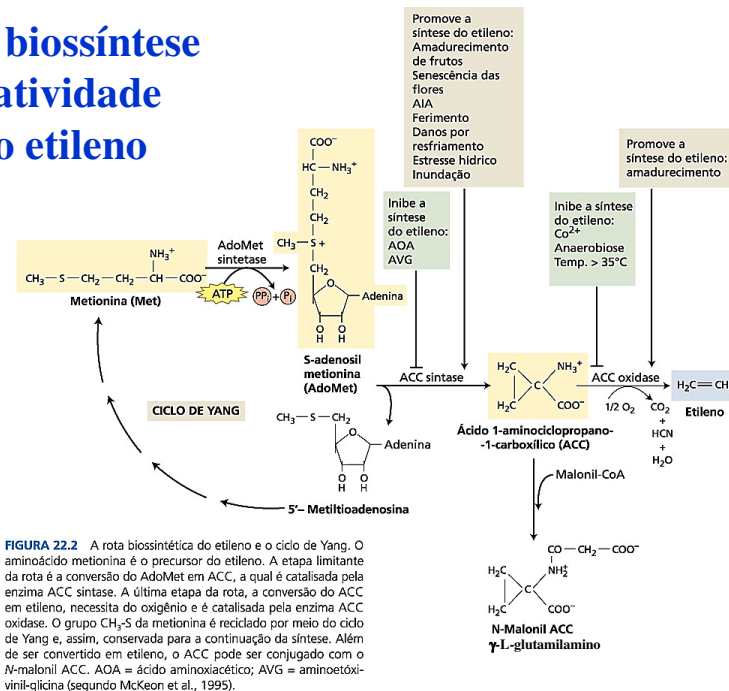


**Figura 1. Distribuição da produção de etileno no caule de ervilha estiolada. Etileno como  $\mu\text{l/g}$  peso fresco/hora (Burg e Burg, 1968. *Pl. Physiol.* 43:1069).**

**• A produção de etileno aumenta durante a abscisão foliar, a senescência de flores e o amadurecimento de frutos climatéricos;**

**• Além disso, escuro, injúria mecânica, doenças e estresses fisiológicos (congelamento, alagamento, alta temperatura e estresse hídrico) induzem a síntese de etileno.**

## A regulação da biossíntese determina a atividade fisiológica do etileno



### Características da enzima sintase do ACC

- **Pertence a uma família multigênica divergente** (identificados 10 genes em tomate, dos quais diferentes subgrupos são induzidos por auxina, fermento e/ou amadurecimento do fruto);
- **Sua expressão é regulada por fatores ambientais e internos;**
- **É a etapa que mais limita a síntese de etileno;**
- **É uma enzima citosólica instável encontrada em baixíssimas concentrações (0,0001% das proteínas totais em tomate maduro).**

## Características da enzimas oxidase do ACC

- **Pertence a uma família multigênica** (regulada diferencialmente por fatores internos);
- **A sua atividade pode ser o fator limitante na etapa de síntese do etileno.**
- **Necessita de  $Fe^{2+}$  e ascorbato** (superfamília de oxidases dependente de Fe/ascorbato);

## INIBIDORES DA SÍNTESE E DA AÇÃO DO ETILENO

### Inibidores da síntese:

#### ➤ **Bloqueia a conversão de S-adenosilmetionina para ACC:**

- ✓ Aminoetoxivinil glicina (AVG);
- ✓ Ácido aminooxiacetato (AOA);

#### ➤ **Bloqueia a conversão de ACC para etileno:**

- ✓ Cobalto ( $Co^{2+}$ );
- ✓ Anaerobiose.

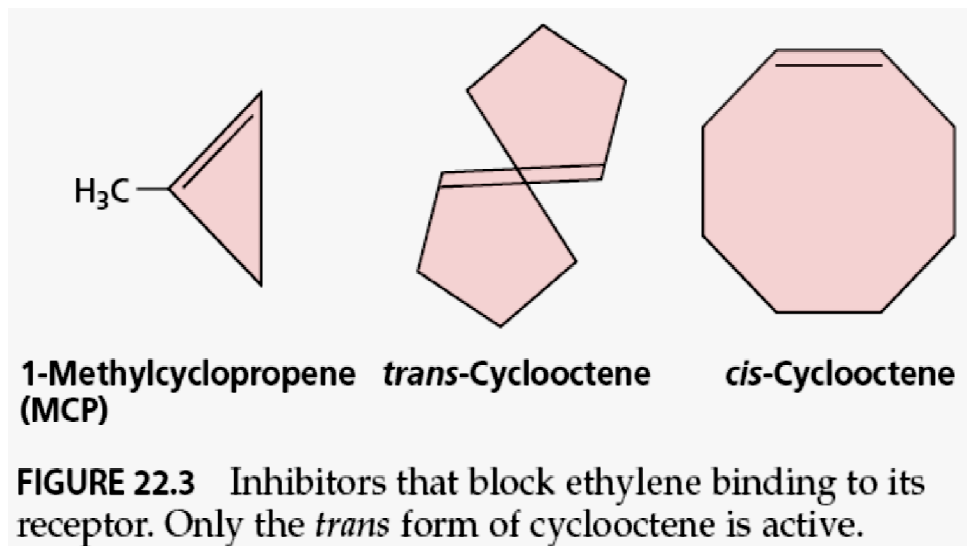
#### • Inibidores da ação:

- ❖ Íons prata ( $Ag^+$ ), na forma de nitrato e tiosulfato de prata;
- ❖  $CO_2$  a 5-10%;
- ❖ Metilciclopropeno (MCP) (**inibidor irreversível**, liga-se ao receptor);
- ❖ Transcicloocteno (**inibidor competitivo**, liga-se ao receptor). ➡

#### • Adsorvente de etileno:

- Permanganato de potássio (usado na conservação de frutos e flores). ➡

## Inibidores da ação do etileno



## Rotas de transdução de sinal do etileno

Apesar da ampla faixa de efeitos do etileno no desenvolvimento vegetal, supõe-se que as principais etapas de sua ação sejam semelhantes em todos os casos: **todas elas envolvem a ligação a um receptor, seguida pela ativação de uma ou mais rotas de transdução de sinal, levando a uma resposta celular.**

Em geral, o etileno exerce seus efeitos principalmente pela alteração do padrão de expressão gênica. **A seleção de mutantes de *Arabidopsis thaliana* contribuiu para a elucidação dos componentes da via de sinalização do etileno.**

Tem-se utilizado a resposta tríplice, em *Arabidopsis*, para isolar mutantes afetados em suas respostas ao etileno. Duas classes de mutantes foram identificadas nestes experimentos:

1. Mutantes que não respondem ao etileno exógeno (mutantes resistentes ou insensíveis ao etileno).
2. Mutantes que apresentaram a resposta, mesmo sem a presença de etileno (mutantes constitutivos).



**FIGURA 22.5** A resposta tríplice em *Arabidopsis*. Plântulas estioladas de três dias, cultivadas na presença (direita) ou ausência (esquerda) de 10 ppm de etileno. Observe o encurtamento do hipocótilo, a redução do alongamento da raiz e a curvatura exagerada do gancho plumular que resulta da presença de etileno (cortesia de J. Kieber).

Os receptores de etileno estão relacionados ao sistema de dois componentes da histidina quinase de bactéria

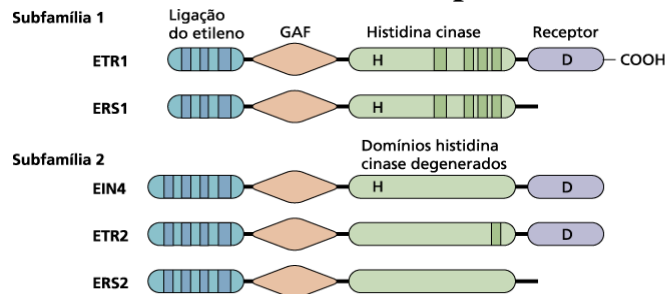
O 1º mutante isolado, sensível ao etileno, foi o *etr1* (*ethylene-response 1*). A sequência de aminoácidos da metade carboxi-terminal da ETR1 é semelhante ao sistema bacteriano de dois componentes da histidina quinase.

**FIGURA 22.6** Triagem para o mutante *etr1* de *Arabidopsis*. As plântulas foram cultivadas por três dias no escuro com etileno. Observe que, exceto uma plântula, todas exibem a resposta tríplice: exagero na curvatura do gancho plumular, inibição e expansão radial do hipocótilo, além do crescimento horizontal. O mutante *etr1* é completamente insensível ao hormônio e cresce como uma plântula não tratada (fotografia de K. Stepnitz do MSU/DOE Plant Research Laboratory).





**O genoma de Arabidopsis codifica quatro proteínas adicionais semelhantes a ETR1, que também funcionam como receptores do etileno.**



**FIGURA 22.7** Diagrama esquemático de cinco proteínas receptoras de etileno e seus domínios funcionais. O GAF é um domínio conservado de ligação com o GMPc, encontrado em um grupo diverso de proteínas que geralmente atuam como pequenas moléculas de ligação ao domínio regulador. H e D são resíduos de histidina e aspartato, que participam na fosforilação. Observe que EIN4, ETR2 e ERS2 apresentam domínios histidina cinase degenerados, significando que eles não possuem aminoácidos cruciais altamente conservados necessários para a atividade catalítica histidina cinase.

Todas essas proteínas compartilham, pelo menos, dois domínios:

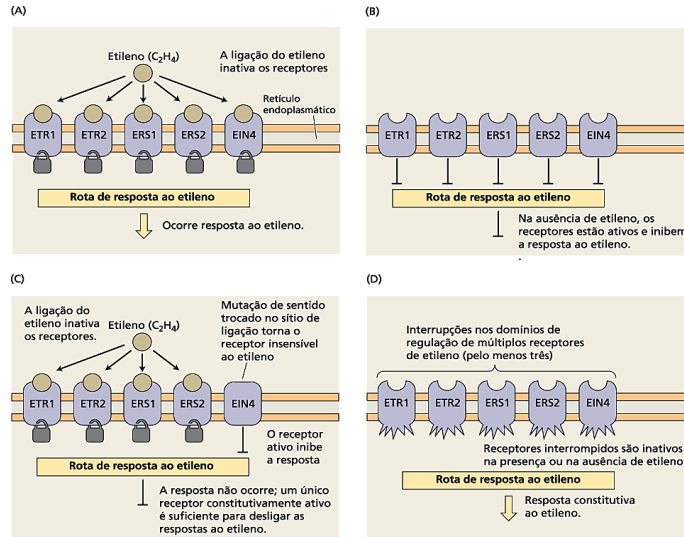
1. O domínio amino-terminal atravessa a membrana ao menos três vezes e contém o sítio de ligação do etileno. O etileno pode rapidamente acessar esse sítio devido à sua hidrofobicidade.
2. A metade carboxi-terminal dos receptores de etileno possui um domínio catalítico homólogo a histidina quinase.

Diferentemente de muitos receptores, os quais estão associados à membrana plasmática, tanto o ETR1 quanto os outros quatro receptores de etileno estão localizados no retículo endoplasmático.

Contudo, o ETR1 pode também estar localizado, pelo menos nas raízes, no complexo de Golgi.

Em qualquer dos casos, a localização intracelular para o receptor de etileno é coerente com a natureza hidrofóbica do etileno, a qual permite a sua livre passagem através da membrana plasmática para o interior da célula.

**Receptores de etileno (codificados por famílias multigênicas), sem os ligantes, são reguladores negativos na rota de resposta**

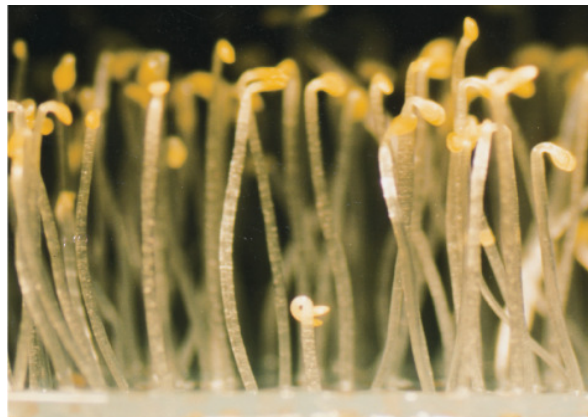


**FIGURA 22.8** Modelo para ação do receptor de etileno baseado no fenótipo de mutantes para receptor. (A) No tipo selvagem, a ligação do etileno inativa os receptores, permitindo a ocorrência da resposta. (B) Na ausência de etileno, os receptores agem como reguladores negativos da rota de resposta. (C) Uma mutação de sentido trocado (*missense*), que interfere na ligação do etileno ao seu receptor, mas deixa o sítio de regulação ativo, resulta em um fenótipo insensível ao etileno. (D) Mutações de interrupção nos sítios reguladores resultam em uma resposta constitutiva ao etileno.

**SÃO FUNCIONALMENTE REDUNDANTES**

A ligação de alta afinidade do etileno ao seu receptor necessita de cobre como cofator, que é adicionado aos receptores de etileno pela proteína RAN1 (RESPONSIVE-TO-ANTAGONIST 1).

Uma proteína quinase de serina/treonina também está envolvida na sinalização de etileno. Várias evidências indicam que a proteína CTR1 interage diretamente com receptores de etileno, sendo parte um complexo proteico envolvido na percepção do etileno.



**FIGURA 22.9** Triagem de mutantes em *Arabidopsis* que exibem constitutivamente a resposta tríplice. As plântulas foram cultivadas por três dias no escuro sem etileno. Evidencia-se uma plântula mutante *ct1*, isolada entre as plântulas tipo selvagens mais altas (cortesia de J. Kieber).

*EIN2* codifica uma proteína transmembranar contendo 12 domínios estendidos através da membrana, que parece atuar como um canal ou poro.

## O etileno regula a expressão gênica

Um dos principais efeitos da sinalização de etileno é uma alteração na expressão de vários genes-alvo.

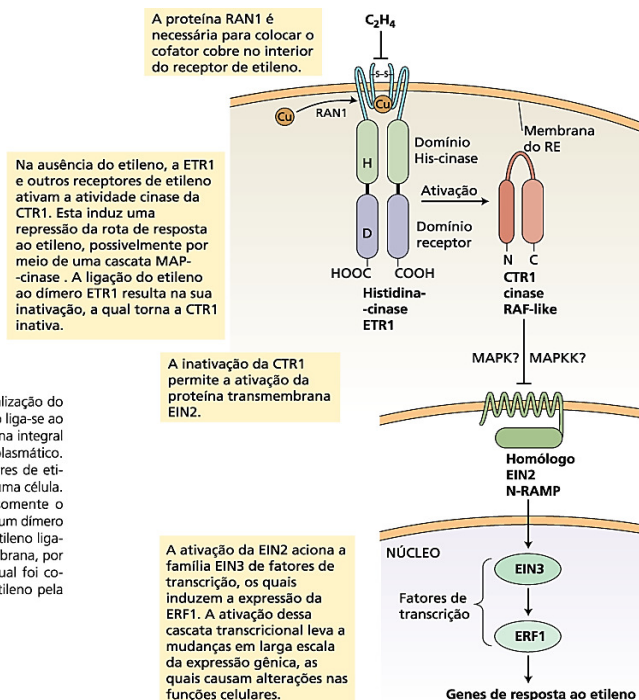
O etileno afeta os níveis de mRNA transcritos de diversos genes, incluindo os que codificam a celulase, bem como aqueles relacionados ao amadurecimento e à síntese de etileno.

Sequências reguladoras denominadas elementos de resposta ao etileno ou EREs têm sido identificadas a partir de genes regulados pelo etileno.

Fatores de transcrição específicos estão envolvidos na expressão de genes regulados por etileno, como EIN3 (ETHYLENE INSENSITIVE 3) e ERF1 (ETHYLENE RESPONSE FACTOR 1).

### Modelo de sinalização de etileno em *Arabidopsis*

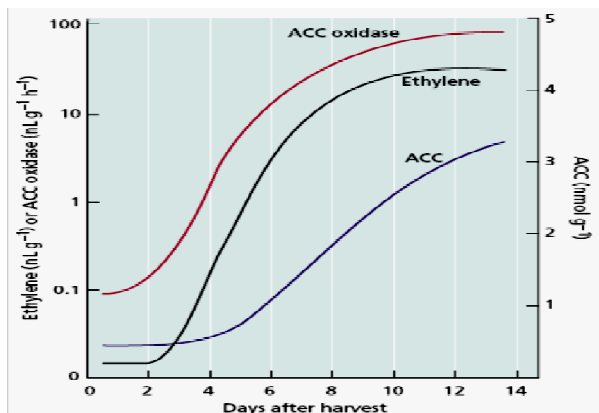
**FIGURA 22.10** Modelo de sinalização do etileno em *Arabidopsis*. O etileno liga-se ao receptor ETR1, que é uma proteína integral de membrana do retículo endoplasmático. Múltiplas isoformas dos receptores de etileno podem estar presentes em uma célula. Para facilitar a compreensão, somente o ETR1 está indicado. O receptor é um dímero unido por pontes dissulfeto. O etileno liga-se dentro do domínio transmembrana, por meio de um cofator cobre, o qual foi colocado dentro do receptor de etileno pela proteína RAN1.



### Efeitos do etileno no desenvolvimento e na fisiologia

- **Indução do amadurecimento de frutos climatéricos;** ⇒
  - **Indução da epinastia;** ⇒
  - **Indução da resposta tríplice, que é caracterizada pela inibição do alongamento longitudinal, pelo intumescimento e indução do crescimento lateral do caule que envolve mudanças no arranjo das microfibrilas de celulose (de transversal para longitudinal);** ⇒
  - **Os ganchos plumulares de plântulas cultivadas no escuro são mantidos pela produção de etileno;**
  - **O etileno induz a formação de raízes adventícias (folhas, caules, pedúnculo floral) e de pelos nas raízes;** ⇒
  - **Promoção da senescência em folhas e flores – sendo regulada pelo balanço entre citocininas (retarda) e o etileno (acelera).** ⇒
- 
- **Indução da abscisão de folhas, frutos e flores;** ⇒
  - **O etileno quebra a dormência de gemas (tubérculos) e de sementes em algumas espécies, como nos cereais;**
  - **Indução da floração em abacaxi e manga;**
  - **Indução da mudança de sexo em plantas monoicas.**  
**P. ex: Indução de flores femininas em pepino;**
  - **O etileno promove o alongamento de caule e de pecíolos de espécies submersas – o etileno aumenta a sensibilidade do meristema intercalar à ação das giberelinas endógenas (arroz);** ⇒

## Amadurecimento de frutos



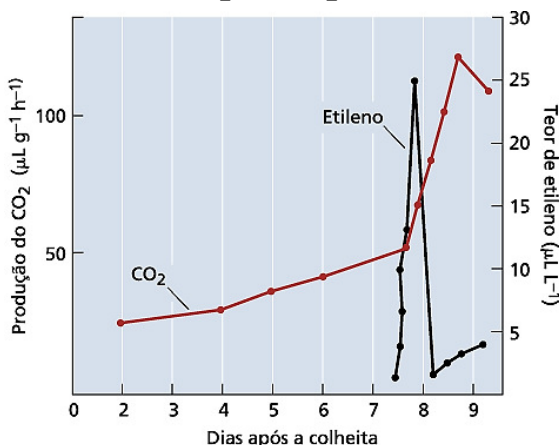
**FIGURE 22.2** Changes in ethylene and ACC content and ACC oxidase activity during fruit ripening. Changes in the ACC oxidase activity and ethylene and ACC concentrations of Golden Delicious apples. The data are plotted as a function of days after harvest. Increases in ethylene and ACC concentrations and in ACC oxidase activity are closely correlated with ripening. (A from Hoffman and Yang 1980; B from Yang 1987.)

O termo amadurecimento de frutos refere-se às mudanças no fruto que o tornam pronto para o consumo.

Estas mudanças incluem o amolecimento do fruto devido à quebra enzimática das paredes celulares, à hidrólise do amido, ao acúmulo de açúcares e ao desaparecimento de ácidos orgânicos e de compostos fenólicos, incluindo os taninos.

Para as sementes cuja dispersão depende da ingestão por animais, amadurecimento e comestibilidade são sinônimos.

## Os frutos que respondem ao etileno apresentam climatérico



**FIGURA 22.11** Produção de etileno e respiração. O amadurecimento na banana é caracterizado por um aumento climatérico na taxa de respiração, conforme evidenciado pelo aumento na produção de  $\text{CO}_2$ . O aumento climatérico na produção de etileno precede o aumento na produção de  $\text{CO}_2$ , sugerindo que o etileno é o hormônio que desencadeia o processo de amadurecimento (segundo Burg e Burg, 1965).

Devido a sua importância na agricultura, a maior parte dos estudos sobre o amadurecimento de frutos tem focado frutos comestíveis.

Por muito tempo, o etileno tem sido reconhecido como o hormônio que acelera o amadurecimento de frutos (climatéricos).

No entanto, a avaliação de um grande número de frutos tem demonstrado que nem todos respondem ao etileno (não climatéricos).

## FRUTOS CLIMATÉRICOS E NÃO-CLIMATÉRICOS

Climatéricos		Não-climatéricos
Maçã	Azeitona	Feijão-de-corda
Abacate	Pêssego	Pimenta doce
Banana	Pêra	Cereja
Melão	Caqui	Uva
Figo	Ameixa	Morango
Manga	Tomate	Melancia
		Citros

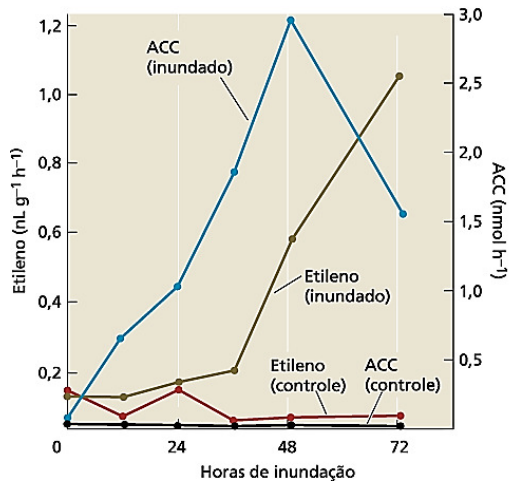


**Epinastia, ou curvatura para baixo, de folhas de tomateiro provocada pelo etileno (células do lado superior do pecíolo crescem mais rápido que as células do lado inferior).**



**FIGURA 22.12** Epinastia foliar em tomateiro. A epinastia, ou curvatura da folha para baixo, (direita) causada pelo tratamento com etileno. A epinastia ocorre quando as células da face superior do pecíolo crescem mais rápido que as da face inferior (cortesia de S. Gepstein).

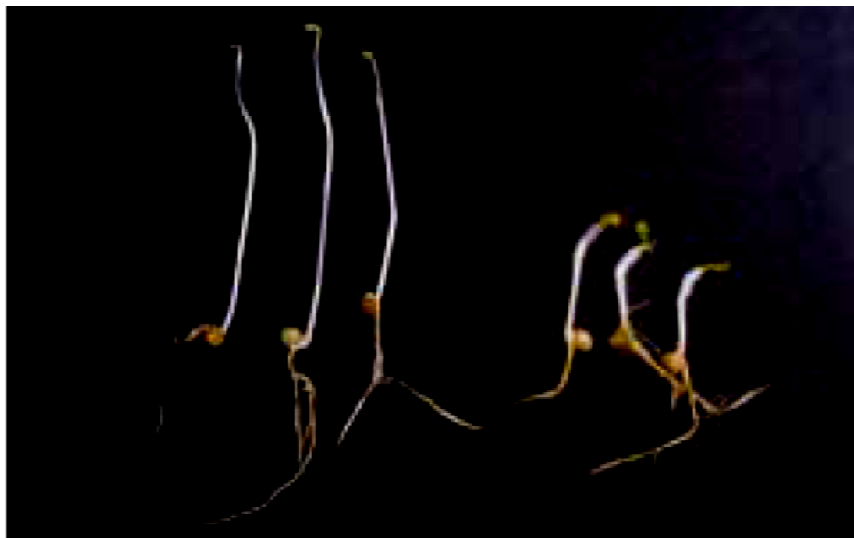
## A epinastia da folha ocorre quando o ACC das raízes é transportado para a parte aérea



**FIGURA 22.13** Variação na quantidade de ACC na seiva do xilema e a produção do etileno em pecíolos, após a inundação de plantas de tomateiro. O ACC é sintetizado nas raízes, porém é lentamente convertido em etileno sob condições anaeróbicas da inundação. O ACC é transportado via xilema para a parte aérea, onde é convertido em etileno. O etileno gasoso não pode ser transportado, de modo que ele geralmente afeta o tecido mais próximo ao local onde foi produzido. Por outro lado, o ACC, precursor do etileno, é transportado e pode produzir etileno longe do local onde foi sintetizado (segundo Bradford e Yang, 1980).



## Resposta tríplice de plantas estioladas de ervilha

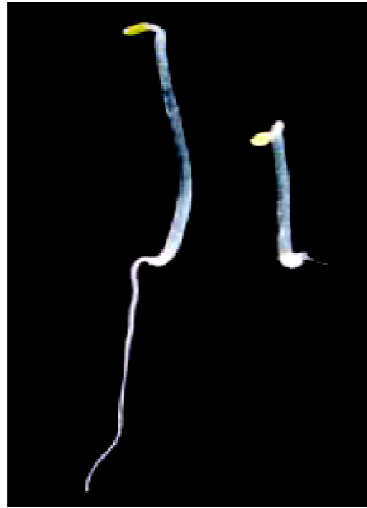


Sem tratamento

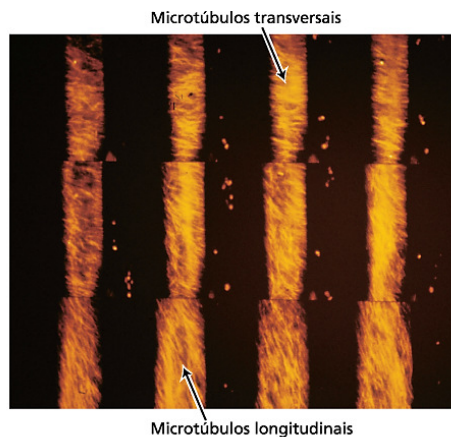
10 ppm de etileno



## O etileno induz a expansão lateral de células



**FIGURE 22.7** The triple response in *Arabidopsis*. Three-day-old etiolated seedlings grown in the presence (right) or absence (left) of 10 ppm ethylene. Note the shortened hypocotyl, reduced root elongation and exaggeration of the curvature of the apical hook that results from the presence of ethylene.



## Reorientação dos microtúbulos, de transversal para longitudinal, em células epidérmicas de caule de ervilha

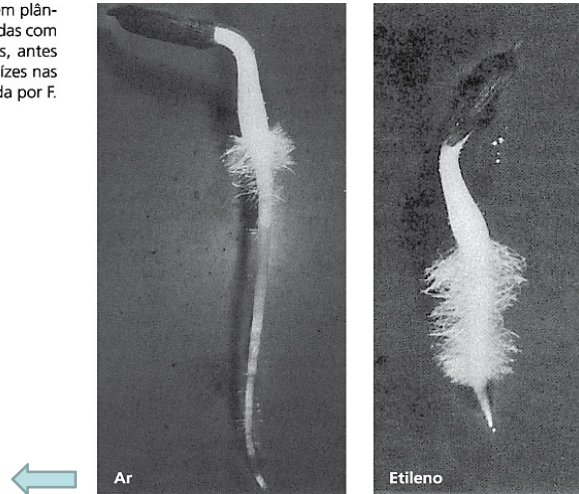
**FIGURA 22.14** Reorientação dos microtúbulos, de transversal para vertical, em células epidérmicas do caule de ervilha, em resposta ao ferimento. Uma célula viva da epiderme foi microinjetada com rodamina conjugada a tubulina, que foi incorporada aos microtúbulos da planta. Uma série temporal de aproximadamente seis minutos de intervalo mostra os microtúbulos corticais sendo reorientados de uma rede transversal para oblíqua/longitudinal. A reorientação parece envolver o surgimento de um novo conjunto "discordante" de microtúbulos em uma nova direção, concomitantemente com o desaparecimento de microtúbulos do alinhamento anterior (de Yuan et al., 1994, fotografia cedida por C. Lloyd).





## O etileno promove a formação de pelos radiculares

**FIGURA 22.16** Formação de pelos de raízes pelo etileno em plântulas de alface. Plântulas com dois dias de idade foram tratadas com ar (esquerda) ou 10 ppm de etileno (direita), por 24 horas, antes da foto ter sido obtida. Observe a profusão dos pelos de raízes nas plântulas tratadas com etileno (de Abeles et al., 1992, cedida por F. Abeles).

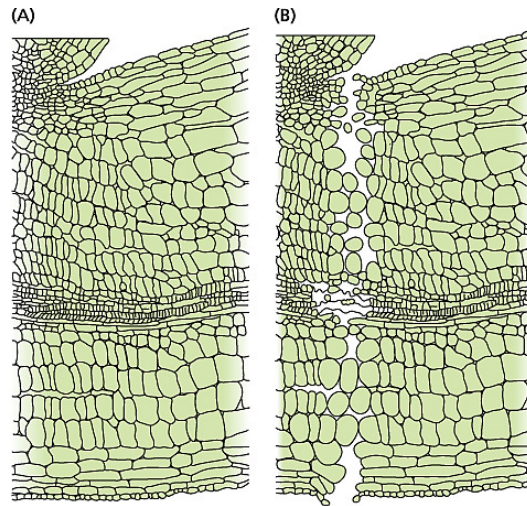


## O etileno aumenta a taxa de senescência de flores.



**FIGURA 22.17** Inibição da senescência de flores pela inibição da ação do etileno. As flores de cravo foram mantidas em água deionizada por 14 dias com (esquerda) ou sem (direita) tiosulfato de prata (TSP), um potente inibidor da ação do etileno. O bloqueio do etileno resulta em uma marcante inibição da senescência floral (de Reid, 1995, cedida por M. Reid).

## O etileno age na camada de abscisão

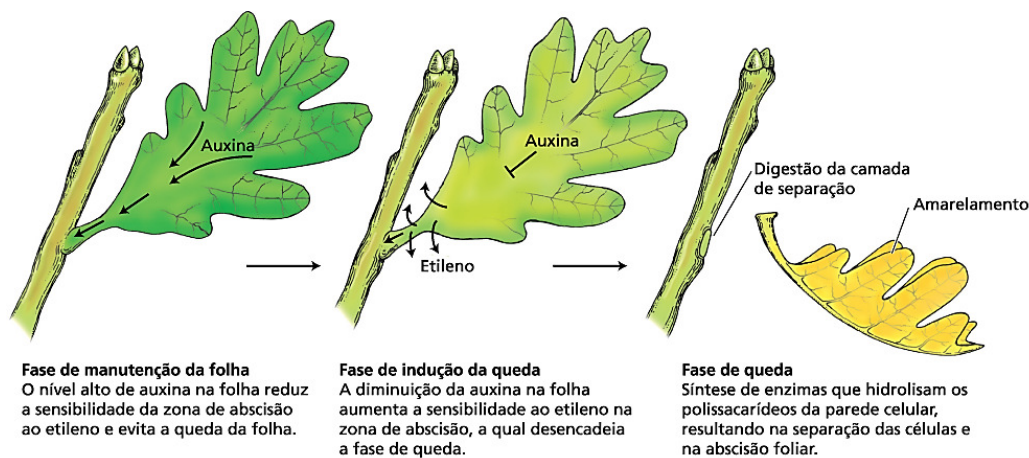


**FIGURA 22.18** Formação da camada de abscisão em beijo-de-frade (*Impatiens*). (A) Durante a abscisão foliar, duas ou três fileiras de células na zona de abscisão sofrem degradação da parede celular devido a um aumento das enzimas que hidrolisam a parede. (B) Os protoplastos resultantes arredondam-se e aumentam em volume, separando as células traqueais e facilitando a separação da folha do caule (segundo Sexton et al., 1984).

**FIGURA 22.19** Efeito do etileno na abscisão de bétula (*Betula pendula*). A planta à esquerda é do tipo selvagem; a planta à direita foi transformada com a versão mutada do receptor do etileno de *Arabidopsis*, *etr1*. A expressão desse gene estava sob controle transcricional de seu próprio promotor. Uma das características dessas árvores mutantes é que elas não perdem as folhas quando fumigadas por três dias com 50 ppm de etileno (de Vahala et al., 2003).

## Efeito do etileno na abscisão em bétula (*Betula pendula*).





**FIGURA 22.20** Visão esquemática dos papéis da auxina e do etileno durante a abscisão foliar. Na fase de indução da queda, o nível de auxina diminui e o de etileno aumenta. Essas mudanças

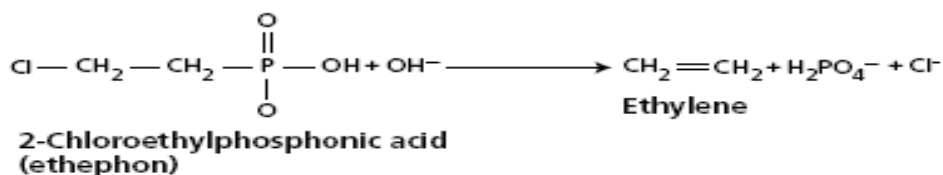
no balanço hormonal aumentam a sensibilidade das células-alvo ao etileno (segundo Morgan, 1984).



## USO COMERCIAL DE ETILENO

**Tendo em vista que o etileno regula vários processos fisiológicos, ele é um dos hormônios mais usados na agricultura. Devido à sua alta taxa de difusão, é muito difícil aplicar o etileno no campo sob a forma de gás, esta limitação pode ser superada com o uso de:**

- 1. Auxinas e ACC (ácido 1-aminociclopropano carboxílico) que podem desencadear a síntese natural de etileno e, em diversos casos, são usados na prática agrícola;**
- 2. Utilização de compostos que liberam etileno. O composto mais utilizado é o ácido 2-cloroetilfosfônico (ethephon, etrel). Ele libera etileno lentamente em ambiente alcalino:**



- **O Etefon:**

- **Acelera o amadurecimento de frutos da macieira e do tomateiro;**
- **Reduz a cor verde em citros;**
- **Sincroniza o florescimento e o estabelecimento de frutos em plantas de abacaxi;**
- **Acelera a abscisão de flores e frutos;**
- **Pode ser utilizado para induzir o raleio de frutos ou a queda de frutos no algodoeiro, na cerejeira e na noqueira;**
- **Promover a expressão do sexo feminino em pepino, impedindo a autopolinização e aumentando a produção.**

3. **Prata ( $Ag^+$ ) – Inibidor da ação é usado para aumentar a longevidade de flores;**

4. **MCP (Ethylblock®) – Inibidor irreversível da ação – Utilizado em uma variedade de aplicações em pós-colheita, sobretudo aumentando a vida média de flores;**

5. **Plantas geneticamente modificadas: Exemplos:**

- ✓ **Expressão de mRNA antisenso da sintase do ACC – Inibe o amadurecimento em tomate;**
- ✓ **Expressão de mRNA antisenso da oxidase do ACC – Retarda a senescência de flores (Petúnia).**