

UNIDADE XV – AUXINAS: O PRIMEIRO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO VEGETAL DESCOBERTO

1. Introdução
2. O surgimento do conceito de auxinas
3. A principal auxina: ácido indol-3-acético
4. O transporte de auxina
5. Rotas de transdução de sinal de auxina
6. Ações da auxina: alongamento celular
7. Ações da auxina: tropismos vegetais
8. Efeitos da auxina no desenvolvimento
9. Usos comerciais de auxinas sintéticas

Introdução

A forma e a função dos organismos multicelulares não poderiam ser mantidos sem uma eficiente comunicação entre células, tecidos e órgãos. Nos vegetais superiores, a regulação e a coordenação do metabolismo, o crescimento e a morfogênese muitas vezes dependem de sinais químicos de uma parte da planta para outra.

Essa ideia surgiu no século XIX com o botânico alemão Julius von Sachs (1832-1897). **Ele propôs que mensageiros químicos são os responsáveis pela formação e pelo crescimento de diferentes órgãos vegetais. Sugeriu também que os fatores externos, como a gravidade, poderiam afetar a distribuição dessas substâncias na planta.**

Os hormônios são mensageiros químicos, produzidos em uma célula, que modulam os processos celulares em outra célula, interagindo com proteínas específicas que funcionam como *receptores* ligados a rotas de transdução de sinal.

Como em células animais, a maioria dos hormônios é sintetizada em um tecido e age, em concentrações extremamente baixas, sobre sítios-alvo específicos em outro tecido.

O desenvolvimento vegetal é regulado por seis tipos principais de hormônios: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abscísico e brassinosteroides.

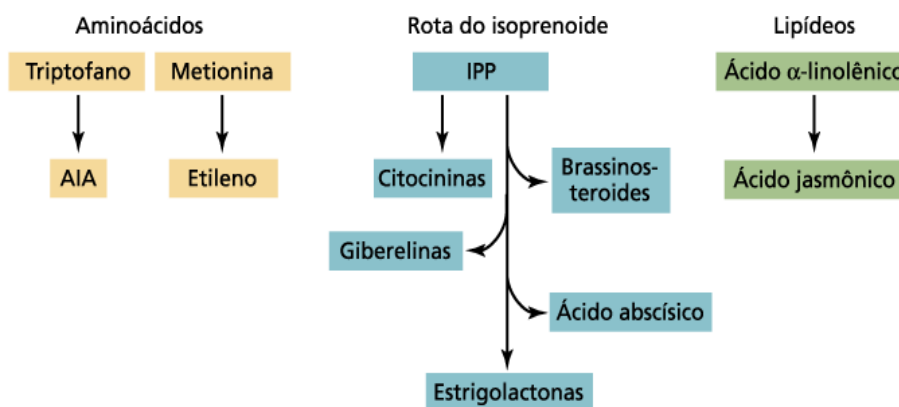


FIGURA A3.1 As três categorias de hormônios baseadas em seus precursores biossintéticos.

Várias outras moléculas sinalizadoras que participam nos processos de resistência a patógenos e de defesa contra herbívoros também têm sido identificadas em plantas, incluindo formas conjugadas e não conjugadas do ácido jasmônico, ácido salicílico e pequenos polipeptídios.

Recentemente, foi demonstrado que a estrigolactona é uma molécula de sinalização transmissível, que regula o crescimento de gemas laterais; este composto pode também ser um verdadeiro hormônio vegetal.

Outras classes de moléculas, como os flavonoides, atuam como moduladores da transdução de sinal, localizados dentro ou fora das células.

Tem sido constatado que a sinalização da auxina funciona virtualmente em cada aspecto do crescimento e desenvolvimento vegetal.

Além disso, a auxina e a citocinina diferem dos demais hormônios vegetais e agentes de sinalização porque elas são necessárias para a viabilidade do embrião vegetal.

Enquanto, os demais hormônios vegetais parecem agir como reguladores de processos distintos do desenvolvimento, a auxina e a citocinina parecem ser, em certo nível, necessárias mais ou menos continuamente.

O surgimento do conceito de auxina

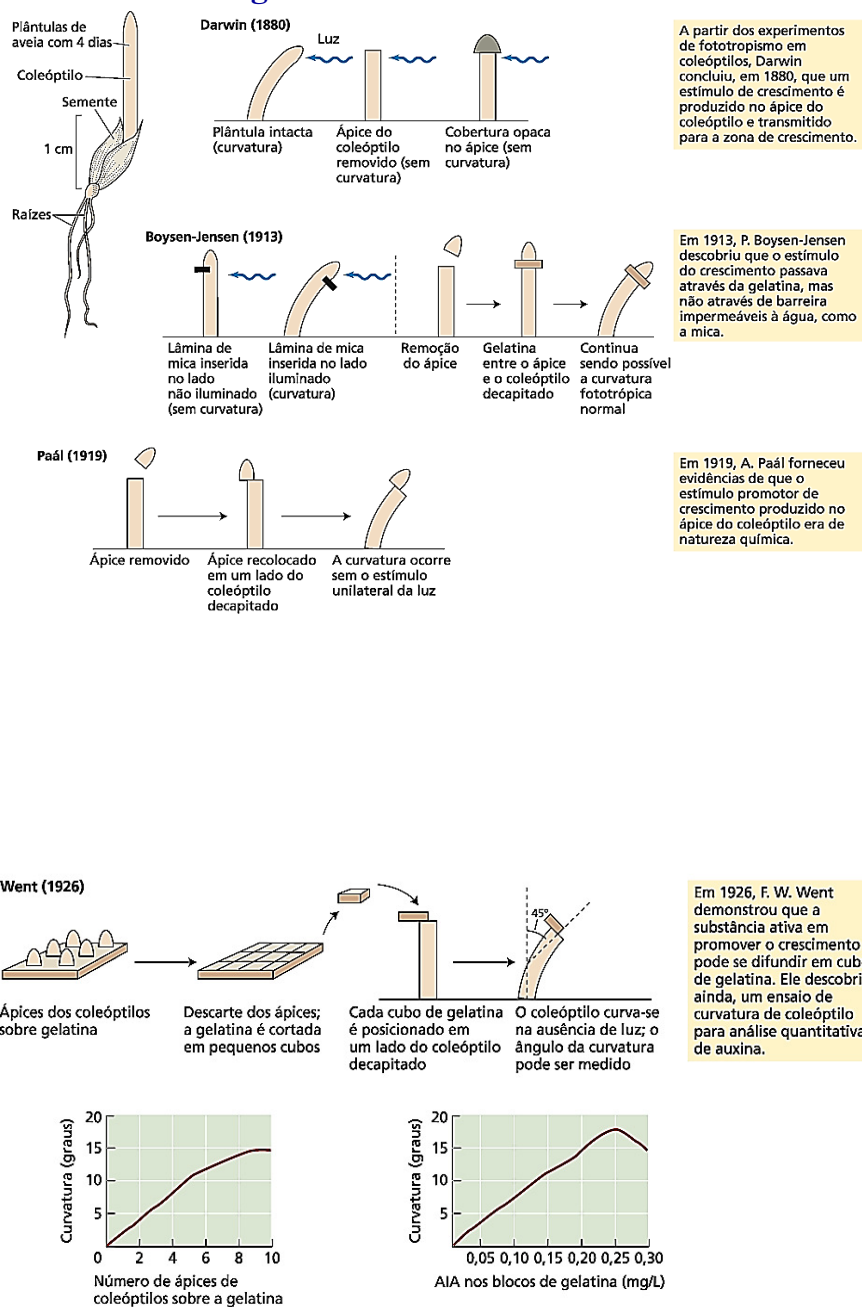


FIGURA 1.1 Resumo dos primeiros experimentos realizados na pesquisa com auxina.

Pelo fato de promover o crescimento de segmentos de coleóptilos, esta substância foi denominada de **AUXINA**, termo de origem grega que significa “crescer” ou “aumentar”.

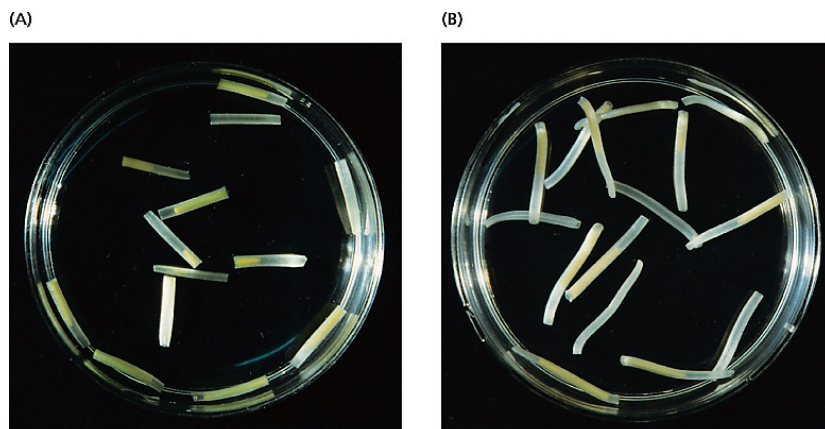
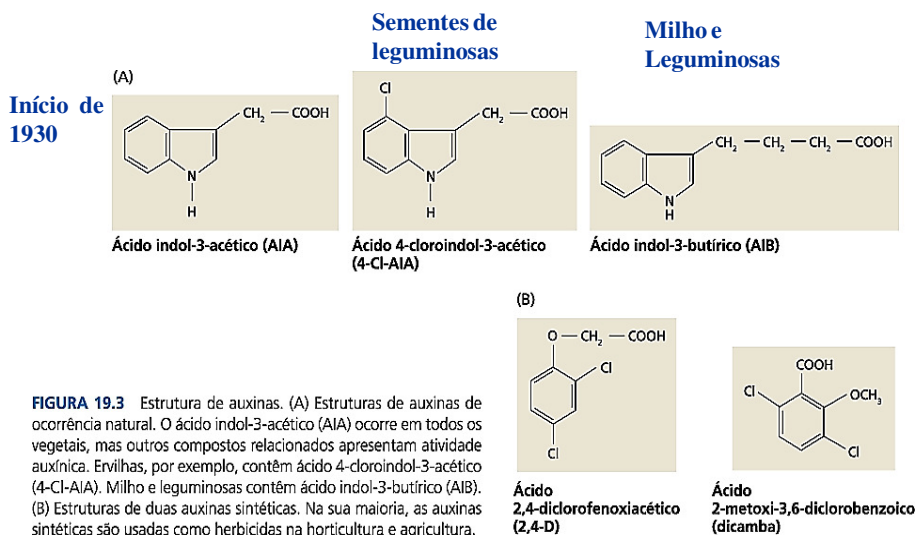
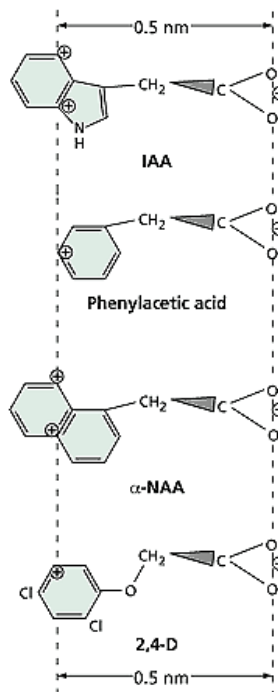


FIGURA 19.2 A auxina estimula o alongamento de segmentos de coleóptilo de aveia. Tais segmentos foram incubados por 18 horas em água (A) ou auxina (B). O tecido amarelo dentro do coleóptilo translúcido corresponde às folhas primárias (fotografias © M. B. Wilkins).

A principal auxina: ácido indol-3-acético



Embora sejam quimicamente diversas, uma característica comum de todas as auxinas ativas é uma distância molecular de cerca de 0,5 nm entre uma carga positiva fracionária no anel aromático e um grupo carboxila carregado negativamente (Farrimond et al., 1978).



O AIA é sintetizado nos meristemas e em tecidos jovens em divisão.

A biossíntese do AIA está associada aos tecidos com divisão e crescimento rápidos, especialmente nas partes aéreas.

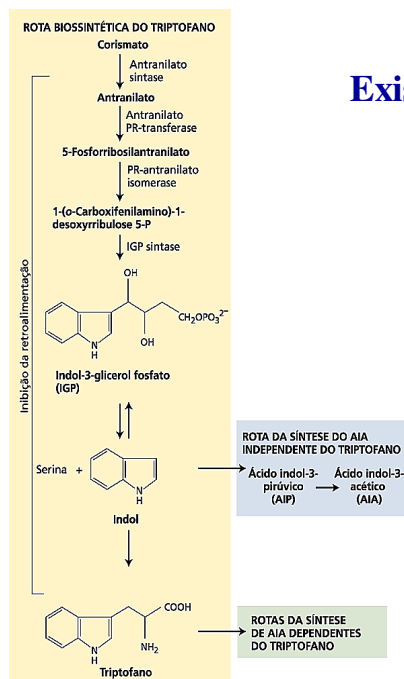
Embora quase todos os tecidos vegetais sejam capazes de produzir baixos níveis de AIA, os meristemas apicais de caules e folhas jovens são os principais locais de síntese desse hormônio.



FIGURA 19.4 Detecção dos locais aparentes de acúmulo de auxina em um primórdio foliar de *A. thaliana*, através da expressão do gene-repórter *GUS* fusionado com um promotor sintético *DR5* responsivo à auxina. O promotor artificial *DR5* é derivado de elementos responsivos à auxina de ocorrência natural e registra a presença dela em tecidos onde os mecanismos de sinalização desse hormônio estão intactos. Durante os estágios iniciais da diferenciação dos hidatódios, é sugerida a acumulação de auxina coerente com a nova síntese, pela presença de uma mancha *GUS* azul escuro concentrada (seta) nos lobos da margem foliar serrilhada. Um gradiente de atividade difusa de *GUS* estende-se da margem em direção ao feixe vascular em diferenciação (ponta da flecha), que parece funcionar como um dreno para o fluxo de auxina originado no lobo (cortesia de R. Aloni e C. I. Ullrich). (*GUS* - β -glucuronidase)

Os meristemas apicais das raízes também são locais importantes de síntese de auxinas, especialmente à medida que as raízes alongam e atingem a maturidade, embora elas permaneçam dependentes da parte aérea para a maior parte de auxina (Ljung et al., 2005).

Frutos jovens e sementes contêm altos níveis de auxina, mas não está claro se esse hormônio é sintetizado nesses locais ou se é transportado dos tecidos maternos durante o desenvolvimento.



Existem múltiplas rotas para a biossíntese do AIA.

FIGURA A3.2 A rota biossintética do triptofano fornece os precursores para a biossíntese de AIA. Na maioria das plantas, a síntese do triptofano ocorre no cloroplasto. O precursor do ponto de ramificação para a biossíntese de AIA independente de triptofano é o indol. Acredita-se que o ácido indol-pirúvico é um intermediário da rota.

Sementes e órgãos de reserva contêm auxina ligada covalentemente

A auxina pode estar covalentemente ligada a compostos de massas moleculares altas e baixas, especialmente em sementes e órgãos de reserva, como os cotilédones.

O metabolismo de conjugação da auxina pode ser o principal fator na regulação dos níveis de auxina livre.

Foi demonstrado, também, que estímulos ambientais, como a luz e a gravidade, afetam tanto a taxa de conjugação de auxina (remoção da auxina livre) quanto a taxa de liberação de auxina livre (hidrólise da auxina conjugada).

A formação da auxina conjugada pode ter outras funções, incluindo reserva ou proteção contra a degradação oxidativa.

O AIA é degradado por múltiplas rotas

Para serem efetivos como sinalizadores do desenvolvimento, os hormônios precisam ter vida curta e não devem se acumular durante todo tempo.

O catabolismo da auxina garante a degradação do hormônio ativo quando a concentração excede o nível ótimo ou quando a resposta ao hormônio está completa.

Assim como na biossíntese do AIA, a decomposição enzimática (oxidação) envolve mais de uma rota metabólica.

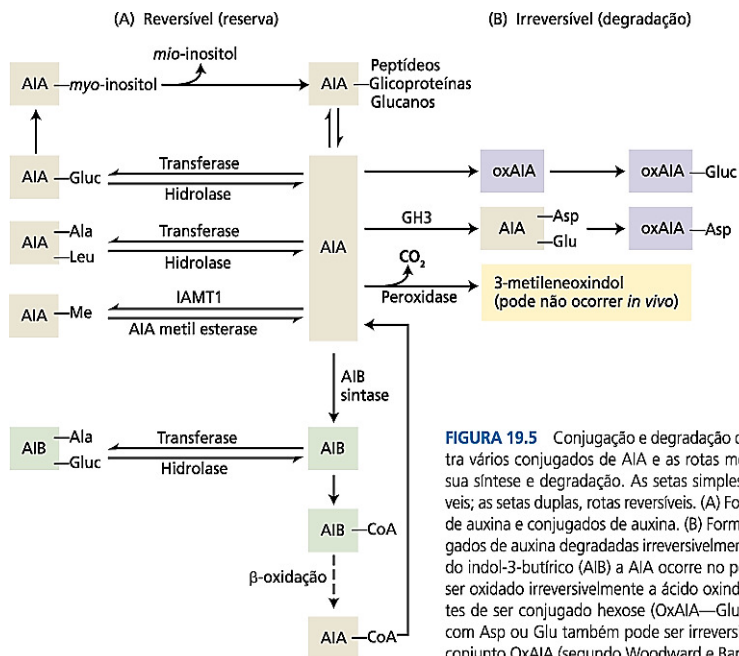


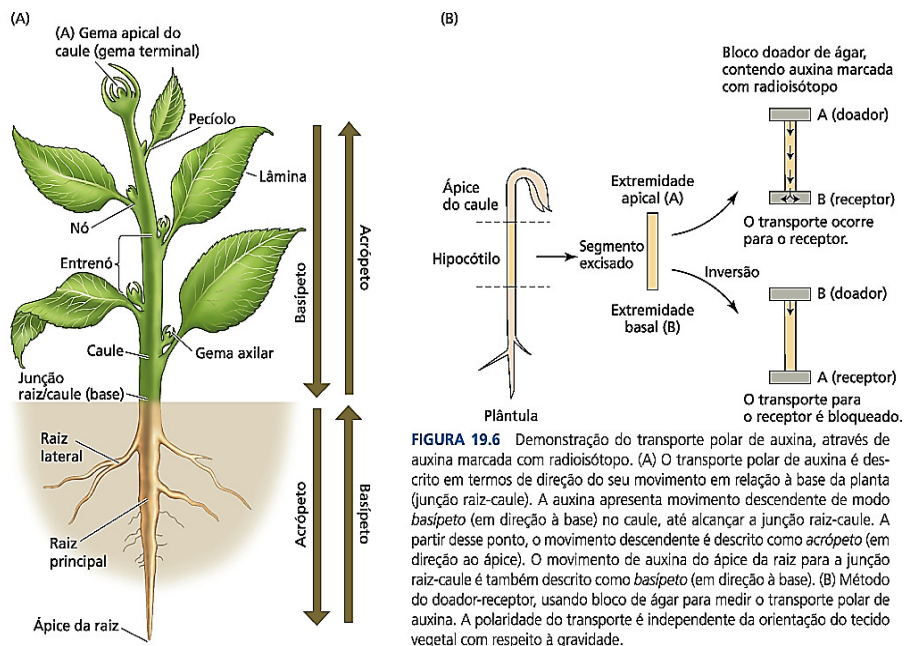
FIGURA 19.5 Conjugação e degradação de AIA. O diagrama mostra vários conjugados de AIA e as rotas metabólicas envolvidas na sua síntese e degradação. As setas simples indicam rotas irreversíveis; as setas duplas, rotas reversíveis. (A) Formas reversíveis (reserva) de auxina e conjugados de auxina. (B) Formas de auxina e de conjugados de auxina degradadas irreversivelmente. A β -oxidação do ácido indol-3-butírico (AIB) a AIA ocorre no peroxissomo. O AIA pode ser oxidado irreversivelmente a ácido oxindol-3-acético (OxAIA) antes de ser conjugado hexose (OxAIA—Gluc). O conjugado de AIA com Asp ou Glu também pode ser irreversivelmente degradado ao conjunto OxAIA (segundo Woodward e Bartel, 2005).

O transporte de auxina

O eixo principal das partes aéreas e das raízes, juntamente com suas ramificações, exibe uma polaridade estrutural ápice-base, a qual é dependente do transporte polar de auxina.

A auxina é o único hormônio de crescimento vegetal em que o transporte polar foi claramente demonstrado.

Visto que o ápice caulinar age como fonte primordial de auxina na planta, o transporte polar tem sido apontado como a causa principal de um gradiente desse hormônio, que se estende do ápice do caule ao da raiz.



O gradiente longitudinal da auxina, desde o caule até a raiz, afeta vários processos do desenvolvimento, incluindo o desenvolvimento do embrião, o alongamento do caule, a dominância apical, a cicatrização de lesões e a senescência foliar.

Os principais locais de transporte polar de auxina em caules, folhas e raízes da maioria dos vegetais são os tecidos parenquimáticos vasculares, mais provavelmente aqueles associados aos elementos condutores do xilema.

Parte do transporte de auxina também ocorre nos tubos crivados (floema), e o movimento dirigido pela translocação fonte-dreno de açúcares contribui para o transporte acrópeto da auxina na raiz.

O transporte de auxina por longa distância no floema revela-se importante também para o controle das divisões de células cambiais e a acumulação ou remoção de calose dos elementos de tubo crivado.

A auxina transportada no floema pode ser transferida também para o parênquima do xilema.

O transporte polar requer energia e independe da gravidade

O transporte polar do AIA requer energia metabólica (inibido por anaerobiose e inibidores respiratórios). Dados recentes mostram que as velocidades de transporte pode ser superior a 3 mm.h^{-1} (maior que difusão e menor que fluxo de massa).

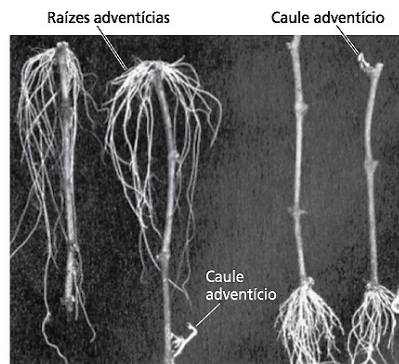


FIGURA 19.7 As raízes adventícias crescem a partir da extremidade basal de estacas de videira e os caules crescem a partir da extremidade apical, quando as estacas estão na posição invertida (as duas estacas à esquerda) ou quando mantidas na posição correta (as estacas à direita). As raízes sempre se formam nas extremidades basais, porque o transporte polar da auxina independe da gravidade (de Hartmann e Kester, 1983).

O potencial quimiosmótico dirige o transporte polar

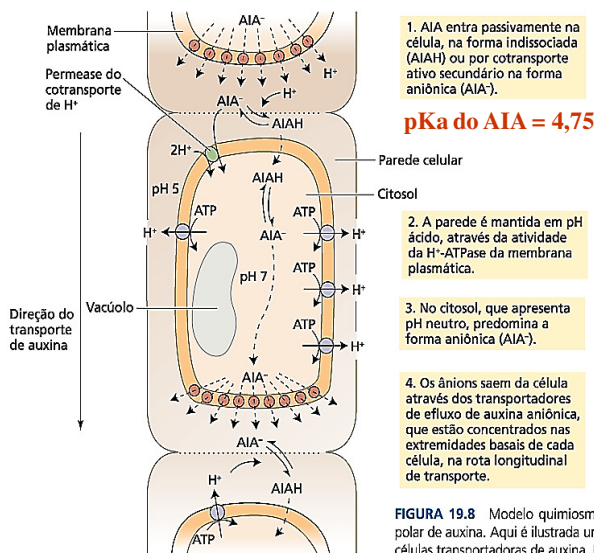
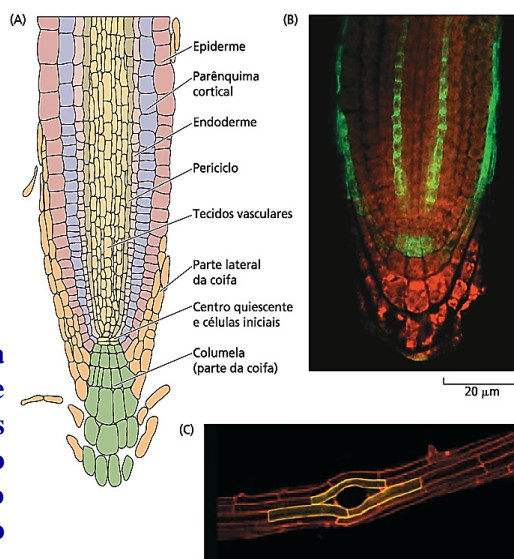


FIGURA 19.8 Modelo quimiosmótico simplificado para o transporte polar de auxina. Aqui é ilustrada uma célula alongada de uma coluna de células transportadoras de auxina. Mecanismos adicionais de exportação contribuem para o transporte, ao impedirem a reabsorção de AIA em locais de exportação e em fileiras de células adjacentes.

Influo de auxina

FIGURA 19.9 A permease de auxina AUX1 é expressa em um subconjunto da columela, da parte lateral da coifa e de tecidos do estelo. LAX3, um outro membro da família AUX/LAX, atua em células corticais e epidérmicas da raiz. (A) Diagrama dos tecidos do ápice da raiz de *A. thaliana*. (B) Imunolocalização da AUX1 nas células do protofloema (no estelo), em um grupo central de células na columela e nas células da parte lateral da coifa. (C) LAX3 medeia a absorção de auxina nas células epidérmicas cercadas as raízes laterais emergentes, a fim de induzir a expansão celular e outras mudanças que permitem a emergência dessas raízes (B, de Swarup et al., 2001; C, de Swarup et al., 2008).

O AUX1 atua na absorção de auxina no ápice de caules e raízes. Nas células laterais da coifa, o AUX1 atua na mobilização de auxina para longe do ápice da raiz, em direção à corrente do transporte basípeto desse hormônio.



Efluxo de auxina

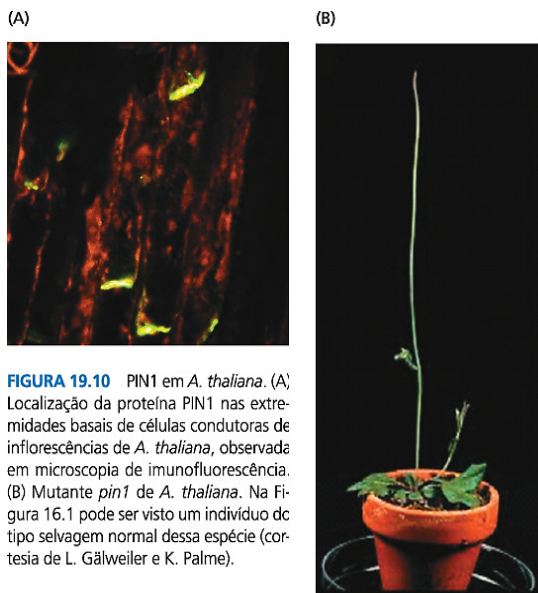


FIGURA 19.10 PIN1 em *A. thaliana*. (A) Localização da proteína PIN1 nas extremidades basais de células condutoras de inflorescências de *A. thaliana*, observada em microscopia de imunofluorescência. (B) Mutante *pin1* de *A. thaliana*. Na Figura 16.1 pode ser visto um indivíduo do tipo selvagem normal dessa espécie (cortesia de L. Gälweiler e K. Palme).

A família de proteínas PIN é denominada segundo a forma de grampo das inflorescências formadas pelo mutante *pin1* de *A. thaliana*.

As proteínas de transporte da família PIN e ABCB servem de mediadores do efluxo de auxina em cada tecido

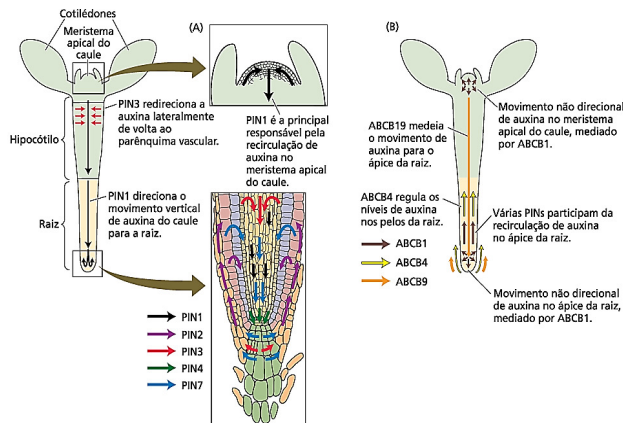


FIGURA 19.11 Em *A. thaliana*, as proteínas de transporte PIN e ABCB direcionam o efluxo de auxina, componente do transporte polar desse hormônio pelo corpo da planta. (A) As proteínas PIN determinam a direção basal do movimento de auxina. O movimento direcional de auxina é associado à distribuição tecido-específica de proteínas PIN transportadoras de efluxo. A PIN1 medeia o transporte vertical de AIA do caule até a raiz, ao longo do eixo embrionário apical-basal (ver Capítulo 16). AUX1 (ver Figura 19.9) cria um dreno de auxina que dirige o transporte basipeto desse hormônio para cima a partir do ápice da raiz, via proteínas PIN2 transportadoras de efluxo. Visto que pode ocorrer alguma difusão lateral de auxina, admite-se

que PIN2 e PIN3 redirecionem a auxina de volta ao parênquima vascular, onde se realiza o transporte polar. Os dois detalhes da figura mostram o movimento de auxina mediado por PIN1 no meristema apical caulinar (superior) e a circulação de auxina regulada por PIN no ápice da raiz (inferior). (B) Fluxo de auxina associado às proteínas de transporte ABCB dependentes de ATP. As setas multidirecionais nos ápices de caule e de raiz indicam o transporte não direcional de auxina. Entretanto, quando combinado com as proteínas PIN de localização polar, ocorre o transporte direcional. A proteína ABCB regula os níveis de auxina nos pelos da raiz em alongamento (A, modelo de raiz segundo Billou et al., 2005).

A modelagem do transporte da auxina em tecidos intactos sugere que o transporte polar também envolve um mecanismo dependente de energia, especialmente em células pequenas próximas aos meristemas apicais.

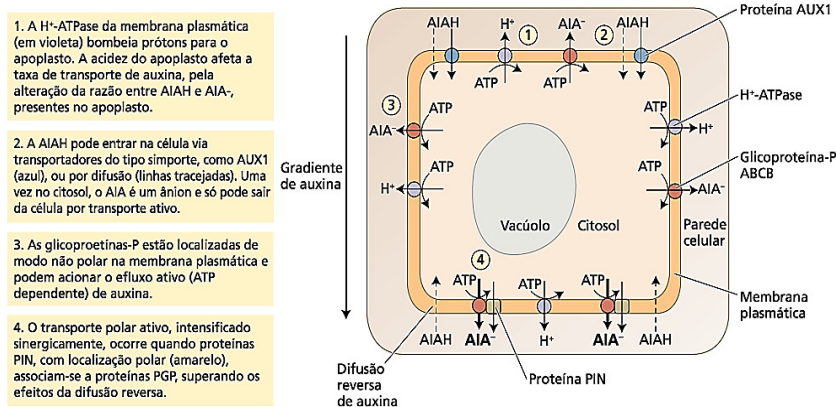


FIGURA 19.12 Modelo para o transporte polar de auxina em pequenas células meristemáticas com expressiva difusão reversa desse hormônio, devido à alta razão superfície-volume. As proteínas mantêm as correntes polares, impedindo a reabsorção de auxina expor-

tada nos sítios de transporte. Em células maiores, os transportadores ABCB parecem excluir o movimento de auxina de correntes polares para as filis de células adjacentes.

As células vegetais contêm transportadores dependentes de ATP, pertencentes às glicoproteínas-P (ou subclasse B) da superfamília ABC. Um subgrupo desses transportadores PGP/ABCB é constituído de proteínas integrais de membrana que funcionam, no fluxo celular de auxina, como transportadores anfipáticos de ânions dependentes de ATP.

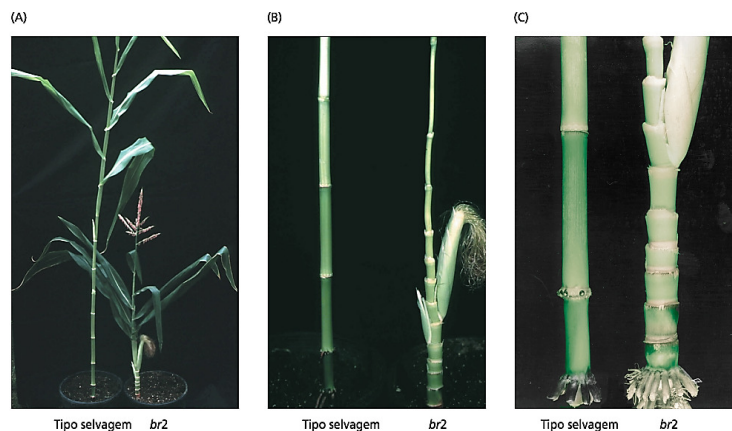
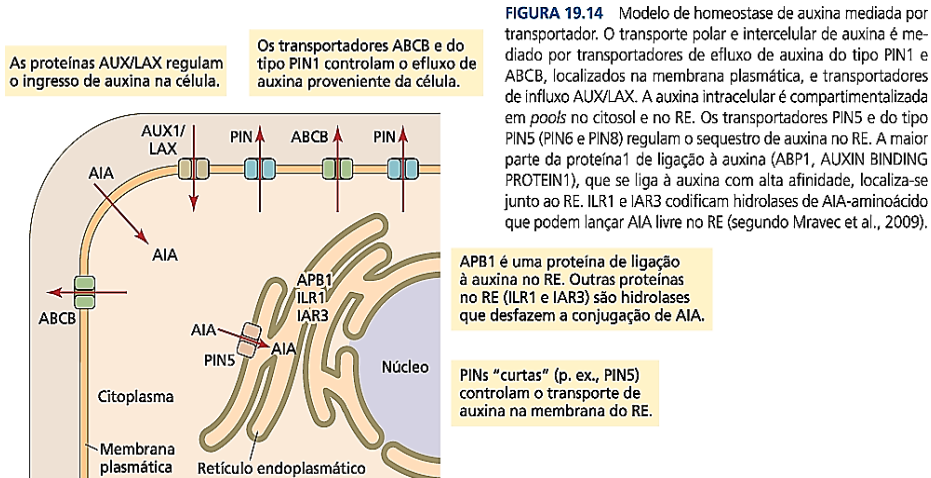


FIGURA 19.13 O gene *BR2* (Brachytic 2) codifica uma glicoproteína-P necessária para o transporte normal de auxina no milho; o mutante *br2* tem entrenós curtos. O mutante foi produzido por mutagenese de inserção com o transposon *Mutator*. Os pesquisadores desconheciam que o transposon *Mu8* continha um fragmen-

to do gene *BR2*. A expressão do fragmento do gene *BR2* produziu RNA de interferência (RNAi), que silenciou a expressão desse gene (ver Capítulo 2). Os mutantes *br2* têm colmos inferiores compactos (B e C), mas pendão e espiga normais (A e B) (de Multani et al., 2003).

Os transportadores PIN e ABCB regulam a homeostase de auxina celular.



Influxo e efluxo de auxina podem ser inibidos quimicamente.

Vários compostos sintéticos inibem o transporte de auxina, como NPA, TIBA, CPD (2-carboxifenil-3-fenilpropano-1,3-diona) e gravacina são inibidores do efluxo de auxina (IEA), ao passo que NOA é um inibidor do influxo.

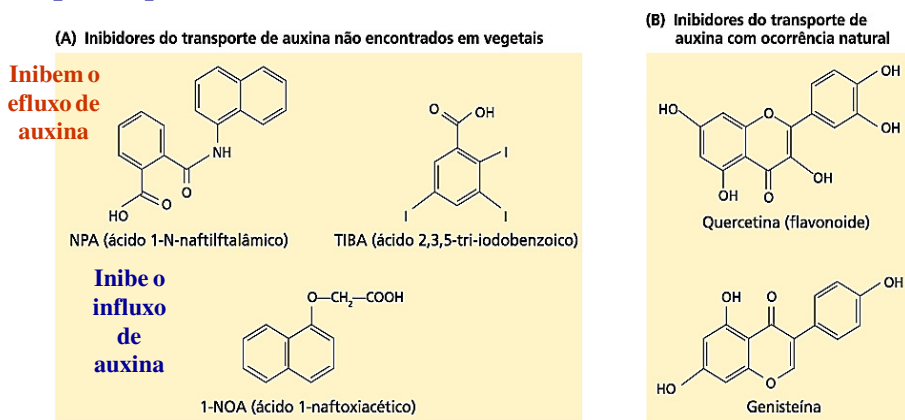


FIGURA 19.15 Estruturas de inibidores sintéticos (A) e naturais (B) do transporte de auxina.

O transporte de auxina é regulado por múltiplos mecanismos.

O transporte de auxina é regulado pela transcrição gênica e mecanismos pós-transcricionais.

Os programas de desenvolvimento e sinais ambientais resultam em aumento ou decréscimo da expressão de genes de transportadores de auxina e genes codificadores de proteínas que os regulam em células e tecidos específicos.

Outro fatores, como o estado de fosforilação, interações com proteínas reguladoras, eventos de tráfego celular, processamento proteolítico e composição de membranas, também determinam as taxas e a direção do transporte de auxina.

Interações com outros hormônios

Quase todos os compostos vegetais de sinalização têm um efeito no transporte de auxina e/ou expressão gênica dependente de auxina.

A própria auxina regula a expressão dos genes que codificam os transportadores de auxina, a fim de aumentar ou diminuir sua abundância e, assim, regular os níveis de auxina.

O etileno influencia as correntes de transporte de auxina, pela mudança de atividade e abundância da absorção de AUX1 e dos transportadores de PIN. Estes efeitos são especialmente pronunciados no desenvolvimento de raízes laterais, embora o etileno afete o transporte de auxina principalmente através da alteração da biossíntese de auxina na raiz.

Brassinoesteroides, citocininas, ácido jasmônico, giberelinas, estrigolactonas e alguns flavonoides também podem regular o transporte de auxina, através da alteração da expressão de genes de transportadores de auxina, da atividade de fatores reguladores e/ou de mecanismo do tráfego celular.

Papel do tráfego de proteínas

A localização de proteínas de transporte de auxina na membrana plasmática envolve o movimento de proteínas recém-sintetizadas através do sistema secretor de endomembranas (tráfego de proteínas).

A localização na membrana plasmática dos transportadores de auxina é regulada pelos mecanismos de tráfego, que envolvem a ciclagem endocítica entre a membrana plasmática e os compartimentos endossômicos.

Esse mecanismo parece regular também como os transportadores PIN de localização polar são mobilizados de uma distribuição simétrica sobre a membrana plasmática para uma extremidade específica da célula.

Papel do tráfego de proteínas

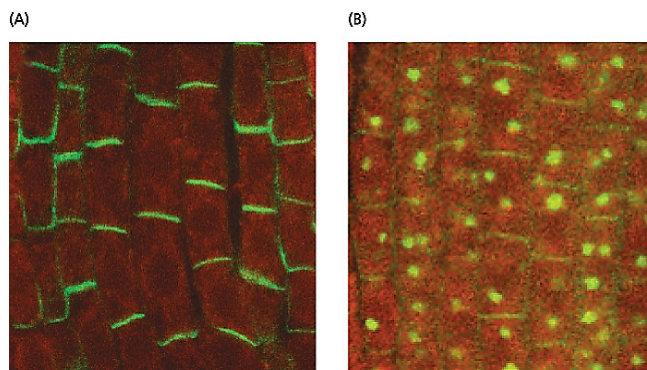


FIGURA 19.16 Os inibidores do transporte de auxina bloqueiam a secreção do transportador de efluxo de auxina, PIN1, para a membrana plasmática. (A) Controle, mostrando a localização assimétrica de PIN1 no ápice da raiz. (B) Após tratamento com brefeldina A (BFA). Como consequência da lavagem com tampão, a localização de PIN1 é restabelecida, voltando à situação em A. Quando BFA é retirada por lavagem com o inibidor do transporte de auxina TIBA, PIN1 permanece em compartimentos endomembranas como em B (fotos cortesia de Klaus Palme, 1999).

Brefeldina A (BFA): Interfere na exocitose proteica e na secreção regulada por ribosilação de ADP/fator de troca do nucleotídeo guanina denominado GNOM;

Citocalasina B: Inibidor da polimerização da actina.

Incorporação e remoção cíclica das proteínas PIN da membrana plasmática com a participação de um compartimento endossômico.

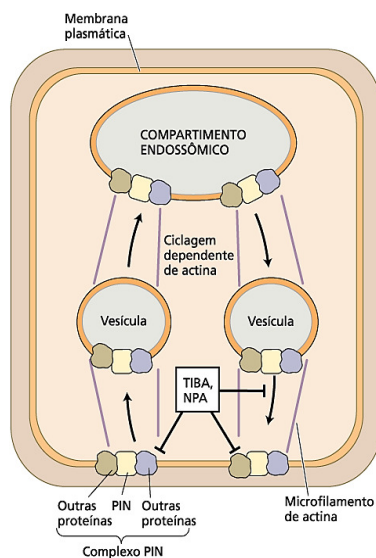


FIGURA 19.17 Ciclagem do complexo PIN, como consequência do tráfego de vesículas, dependente de actina, entre a membrana plasmática e um compartimento endossômico. Os inibidores do transporte de auxina, TIBA e NPA, interferem na realocação das proteínas PIN1 nas regiões basais da membrana plasmática, após uma lavagem com BFA (ver Figura 19.16). Isso sugere que inibidores do transporte de auxina podem interferir na ciclagem do complexo PIN1.

Papel dos flavonoides

Mutantes de *A. thaliana* produzindo flavonoides em excesso ou para menos exibem alterações no crescimento e no transporte de auxina.

Alguns flavonoides, como os flavonóis quercetina e canferol, podem remover IEAs (inibidores do efluxo de auxina) de membranas vegetais.

Esses compostos vegetais de ocorrência natural também inibem a atividade de certas quinases e fosfatases.

Os flavonoides são também inibidores da atividade de transporte das proteínas ABCB, à medida que inibem a hidrólise de ATP que fornece energia a esses transportadores.

Rotas de transdução de sinal de auxina

O objetivo final da pesquisa sobre mecanismos moleculares de ação hormonal é reconstruir cada etapa da rota de transdução de sinal, desde a ligação ao receptor até a resposta fisiológica.

No caso da auxina, isso seria uma tarefa especialmente desestimulante, pois esse hormônio afeta muitos processos fisiológicos e de desenvolvimento.

Contudo, as etapas iniciais na sinalização da auxina são surpreendentemente simples e envolvem a ligação a um grupo pequeno de complexos receptor-enzima que regulam a degradação proteica através da rota ubiquitina-proteossomo (unidade XI).

Sob ativação por auxina, o complexo receptor-enzima marca repressores transcricionais específicos para proteólise, resultando na ativação e desrepressão de genes responsivos à auxina.

Enquanto esse mecanismo parece ser o responsável pela maioria das respostas à auxina, um tipo diferente de proteína receptora de auxina pode funcionar na mobilização e ativação não transcricional de H⁺-ATPases de membrana plasmática, causando uma rápida acidificação da parede celular e alongamento da célula.

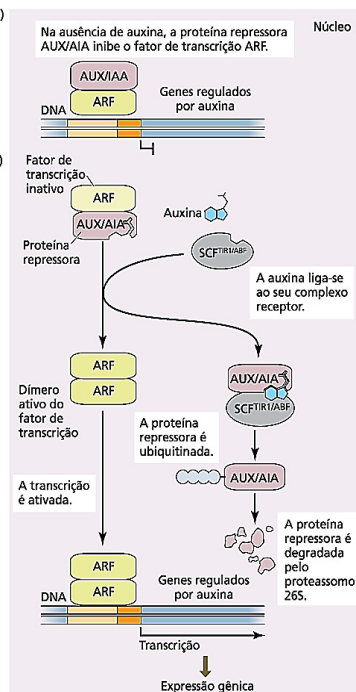
Os principais receptores de auxina são heterodímeros proteicos solúveis

Os principais receptores de auxina têm sido identificados como complexos constituídos de uma proteína solúvel pertencente à família TIR/AFB e um membro da família maior de proteínas repressoras transcricionais AUX/AIA. (Ver fig. 19.18)

As proteínas TIR1/AFB são denominadas pelo primeiro membro da família identificado em vegetais, *TRANSPORT INHIBITOR RESISTANT 1*, e sua classificação geral como proteínas *Auxin F-box Binding* (proteínas F-box de sinalização de auxina). Elas são componentes proteicos F-box de um complexo ubiquitina E3 ligase, denominado SCF.

FIGURA 19.18 Um modelo de ligação da auxina à composição de receptores TIR1/ABF-AUX/AIA e ativação transcripcional subsequente dos genes de resposta à auxina. (A) Na ausência de auxina, os repressores AUX/AIA inibem a transcrição dos genes induzidos por esse hormônio, através da ligação a ativadores transcripcionais ARF, levando-os a um estado inativo. A auxina funciona como "adesivo molecular", iniciando uma interação entre uma AUX/AIA e o componente TIR1/ABF de um complexo SCF^{TIR1/ABF}. (B) Os complexos SCF^{TIR1/ABF}, ativados por auxina, conectam moléculas de ubiquitina às proteínas AUX/AIA, promovendo sua destruição pelo proteassomo 26S. A remoção e a degradação de proteínas AUX/AIA "revelam" os ativadores transcripcionais ARF. Os ativadores transcripcionais ARF se ligam aos elementos de resposta à auxina (AuxRE) e estimulam a transcrição dos genes induzidos por auxina.

- **Genes induzidos por auxina são regulados negativamente pelas proteínas AUX/AIA;**
- **A ligação da auxina ao heterodímero TIR1/ABF-AUX/AIA estimula a destruição de AUX/AIA.**



Os genes induzidos pela auxina estão classificados em precoces e tardios

1. Os genes de resposta à auxina diretamente ativados pela sinalização AIA / AUX-TIR / AFB são descritos como genes de resposta primária ou genes precoces:
 - genes da família AUX/AIA (5 a 60 minutos) – Associados às respostas secundárias;
 - genes da família SAUR (2 a 5 minutos)– Relacionados ao tropismo, mas função desconhecida;
 - genes da família GH3 (5 minutos)– Relacionados ao crescimento e à respostas à luz;

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

- **Transcrição** - Alguns dos genes precoces (genes da família AUX/AIA) codificam proteínas que regulam a transcrição dos genes da resposta secundária ou genes tardios, que são necessários para as respostas de longo prazo ao hormônio.
- **Sinalização** – Outros genes precoces estão envolvidos na comunicação intercelular ou sinalização célula-a-célula.
- **Conjugação/catabolismo de auxina** – Alguns genes induzidos rapidamente codificam proteínas que estão envolvidas na eliminação, por conjugação ou degradação, de AIA ativo.

2. **Genes tardios para adaptações ao estresse** – Os genes que atuam mais tarde em processos de desenvolvimento induzidos por auxina - geralmente 2 a 4 horas após um aumento de auxina – também têm sido identificados.

- Diversos genes que codificam as glutathione-S-transferases (GSTs), uma classe de proteínas estimuladas por condições de estresse variadas, são induzidos por concentrações elevadas de auxina.
- Da mesma maneira, níveis altos de auxina induzem a ACC sintase, que também é induzida por estresse e representa a etapa limitante de taxa de biossíntese de etileno.

Nenhum dos genes tardios de resposta à auxina codifica proteínas que atuam na mediação direta de mecanismos primários de resposta à auxina.

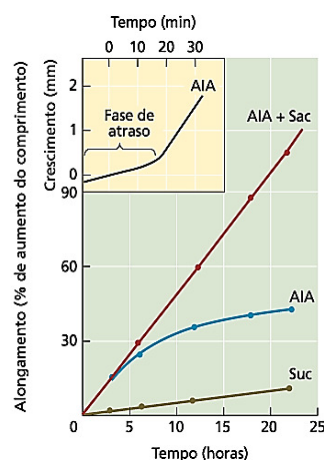
Ações da auxina: Alongamento celular

As auxinas promovem o crescimento de caules e coleótilos e inibem o crescimento de raízes.

Conforme discutido, a auxina é sintetizada no ápice caulinar e transportada, de modo basípeto, aos tecidos subjacentes. O suprimento constante de auxina que chega à região subapical do caule ou do coleótilo é necessário ao alongamento contínuo dessas células.

Quando a fonte endógena de auxina é removida por excisão das regiões contendo as zonas de alongamento, a taxa de crescimento decresce rapidamente a uma taxa basal baixa. Com frequência, essas regiões excisadas respondem drasticamente à auxina exógena, aumentando rapidamente sua taxa de crescimento aos níveis observados na planta intacta.

FIGURA 19.19 Intervalo de tempo do crescimento de segmentos de coleótilos de aveia (*Avena*) induzido pela auxina. O crescimento é plotado como porcentual de aumento do comprimento. A auxina foi adicionada no tempo zero. Quando a sacarose (Sac) é acrescentada ao meio, a resposta pode continuar por até 20 horas. A sacarose prolonga a resposta de crescimento à auxina, principalmente por fornecer um soluto osmoticamente ativo que pode ser absorvido para a manutenção da pressão de turgor durante o alongamento celular. O KCl pode substituir a sacarose. O detalhe mostra graficamente o resultado do crescimento, em escala menor de tempo, plotado a partir de leituras de um transdutor eletrônico com sensor de posição. Neste gráfico, o crescimento é plotado em valores absolutos de milímetros versus tempo. A curva mostra uma fase de atraso de aproximadamente 15 minutos para que inicie o crescimento estimulado pela auxina (de Cleland, 1995).



A concentração ótima de auxina para o alongamento em caules de ervilha e coleótilos de aveia varia entre 10^{-6} e 10^{-5} M. Em outras espécies, como *A. thaliana*, a concentração ótima é ligeiramente mais baixa.

A inibição observada quando as concentrações de auxina excedem os níveis ótimos é em geral atribuída à biossíntese de etileno.

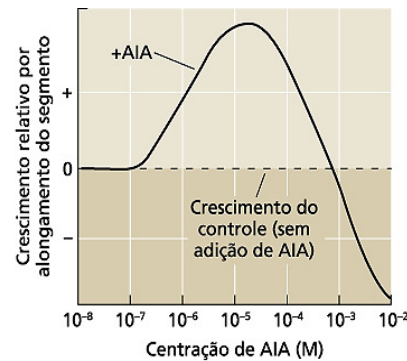
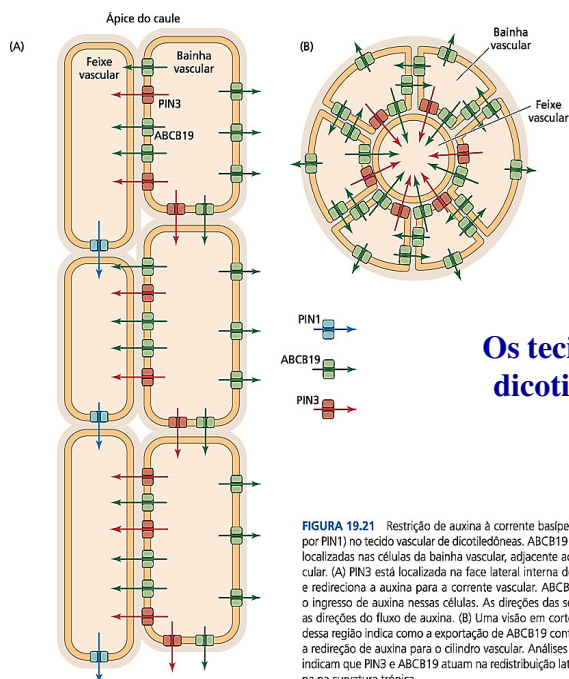


FIGURA 19.20 Curva típica de dose-resposta do crescimento induzido por AIA em segmentos de caule de ervilha ou de coleótilos de aveia. O alongamento dos segmentos de coleótilos ou de caules jovens removidos é plotado em relação às concentrações crescentes de AIA exógeno. Em concentrações mais altas (acima de 10^{-5} M), o AIA torna-se cada vez menos efetivo; mais ou menos acima de 10^{-4} M, ele se torna inibidor, conforme demonstrado pela queda da curva abaixo da linha tracejada, que representa o crescimento sem adição de AIA.

O controle do alongamento da raiz exercido pela auxina tem sido mais difícil de demonstrar, talvez porque a auxina induza a produção de etileno, que também inibe o crescimento da raiz.

No entanto, mesmo se a biossíntese de etileno for especificamente bloqueada, baixas concentrações de auxina (10^{-10} a 10^{-9} M) promovem o crescimento de raízes intactas, enquanto altas concentrações (10^{-6} M) inibem o crescimento.

Assim, enquanto as raízes podem necessitar de uma concentração mínima de auxina para crescer, seu crescimento é fortemente inibido por concentrações de auxina que promovem o alongamento de caules e coleótilos.



Os tecidos externos do caule de dicotiledôneas são os alvos da ação da auxina.

FIGURA 19.21 Restrição de auxina à corrente basípeta (acionada por PIN1) no tecido vascular de dicotiledôneas. ABCB19 e PIN3 estão localizadas nas células da bainha vascular, adjacente ao tecido vascular. (A) PIN3 está localizada na face lateral interna dessas células e redireciona a auxina para a corrente vascular. ABCB19 restringe o ingresso de auxina nessas células. As direções das setas indicam as direções do fluxo de auxina. (B) Uma visão em corte transversal dessa região indica como a exportação de ABCB19 contribuiria para a redireção de auxina para o cilindro vascular. Análises mutacionais indicam que PIN3 e ABCB19 atuam na redistribuição lateral de auxina na curvatura trópica.

O tempo de atraso (*lag period*) mínimo de resposta para o alongamento induzido por auxina é de 10 minutos. Esse período de atraso reflete o tempo necessário para que a maquinaria bioquímica da célula efetue o aumento na taxa de crescimento.

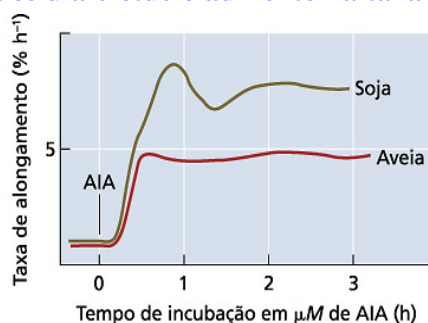


FIGURA 19.22 Comparação da cinética de crescimento de segmentos de coleótilo de aveia e de hipocótilo de soja, incubados com 10 μM de AIA e 2% de sacarose. O crescimento é plotado como a taxa de alongamento, em vez do crescimento absoluto em cada ponto do tempo. A taxa de crescimento do hipocótilo de soja oscila após 1 hora, enquanto a do coleótilo de aveia é constante (segundo Cleland, 1995).

A auxina aumenta rapidamente a extensibilidade da parede celular

Como a auxina provoca o aumento de 5 a 10 vezes na taxa de crescimento em apenas 10 minutos?

As células vegetais expandem-se em três etapas:

1. A absorção osmótica da água pela membrana plasmática é acionada por um gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$).
2. A pressão de turgor se estabelece devido à rigidez da parede celular.
3. Ocorre afrouxamento bioquímico da parede, permitindo à célula expandir-se em resposta à pressão de turgor.

Os efeitos desses parâmetros sobre a taxa de crescimento (GR) são condensados na equação:

$$GR = m (\Psi_p - Y)$$

A extrusão de prótons induzida por auxina aumenta a extensão celular

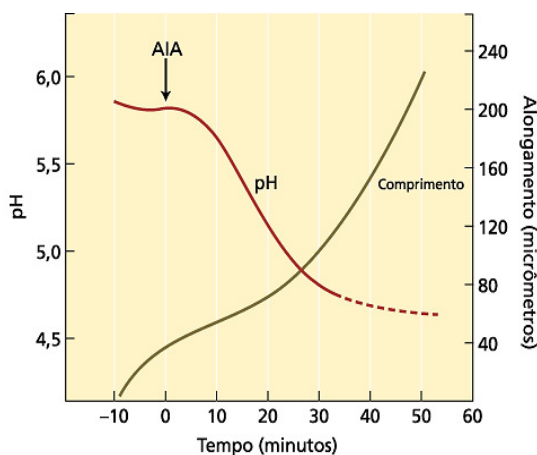
De acordo com a hipótese do crescimento ácido, amplamente aceita, os íons hidrogênio agem como intermediários entre a auxina e o afrouxamento da parede celular. A fonte dos íons hidrogênio é a H⁺-ATPase da membrana plasmática, cuja atividade aumenta em resposta à auxina.

A hipótese do crescimento ácido permite cinco previsões:

1. Os tampões ácidos deveriam promover o crescimento em período curto, desde que a cutícula tenha sofrido abrasão para permitir o acesso dos prótons à parede celular.
2. A auxina deveria aumentar a taxa de extrusão de prótons (acidificação da parede) e a cinética da extrusão dos prótons deveria se igualar àquela do crescimento induzido por auxina.

3. Os tampões neutros deveriam inibir o crescimento induzido por auxina.
4. Os compostos (outros além da auxina) que promovem a extrusão de prótons deveriam estimular o crescimento.
5. As paredes celulares deveriam conter um “fator de afrouxamento da parede” em um pH ácido ótimo.

Todas as cinco previsões foram confirmadas. E as proteínas que participam do afrouxamento da parede são denominadas expansinas, elas afrouxam as paredes celulares mediante enfraquecimento das pontes de hidrogênio existentes entre seus polissacarídios, quando o pH é ácido.



A extrusão de prótons induzida por auxina envolve a ativação e mobilização de proteínas.

FIGURA 19.23 Cinética do alongamento e da acidificação da parede celular induzidos por AIA, em coleótilos de milho. O pH da parede celular foi medido com um microeletrodo. Observe os tempos de atraso similares (10 a 15 minutos) tanto para a acidificação da parede celular quanto para o aumento na taxa de alongamento (de Jacobs e Ray, 1976).

Ações da auxina: Fototropismo e Gravitropismo

Os três principais sistemas de orientação do crescimento das plantas são:

1. **Fototropismo** é expresso em todas as partes aéreas e algumas raízes; garante que as folhas recebam luz solar suficiente para realizar fotossíntese.
2. **Gravitropismo** possibilita que as raízes cresçam em direção ao solo e as partes aéreas em direção contrária, respostas que são especialmente críticas nos estágios iniciais da germinação.
3. **Tigmotropismo**, ou crescimento em resposta ao toque, permite que as raízes cresçam ao redor de obstáculos e é responsável pela capacidade das partes aéreas de plantas ascendentes enrolarem-se em outras estruturas de suporte.

O fototropismo é mediado pela redistribuição lateral da auxina

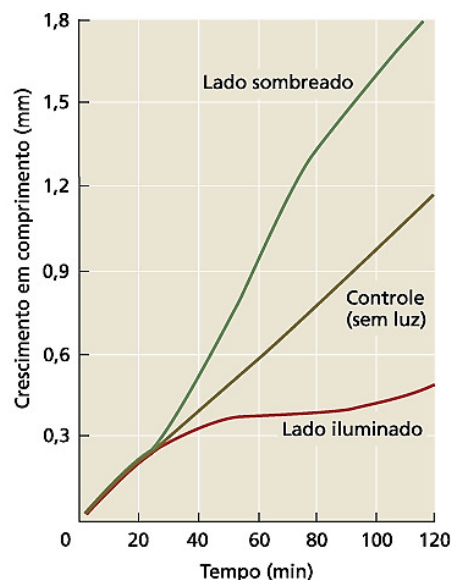


FIGURA 19.24 Intervalo de tempo do crescimento dos lados iluminado e sombreado de um coleóptilo, respondendo a um pulso de 30 segundos de luz unidirecional. Não foi dado o tratamento de luz aos coleóptilos-controle (segundo Lino e Briggs, 1984).

Dois flavoproteínas (cofator é o FMN), fototropinas 1 e 2, são fotorreceptores da rota de sinalização para a luz azul que induzem a curvatura fototrópica em hipocótilos de *A. thaliana* e coleótilos de aveia sob condições de baixa e alta fluência. Elas são proteínas quinases autofosforilantes, cuja atividade é estimulada pela luz.

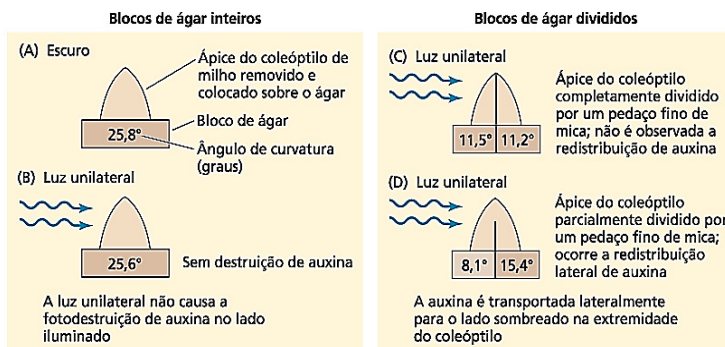


FIGURA 19.25 Evidência de que a redistribuição lateral da auxina é estimulada pela luz unidirecional, em coleótilos de milho. A quantidade de auxina no bloco de ágar é expressa pelo ângulo

de curvatura que o bloco induz quando testado no bioensaio de curvatura de coleótilo (ver Figura 19.1).

Experimentos com *A. thaliana* sugerem que o movimento fototrópico da auxina envolve a inibição de ABCB19, a desestabilização de PIN1 e a inibição e/ou realocação de proteínas PIN3 localizadas lateralmente.

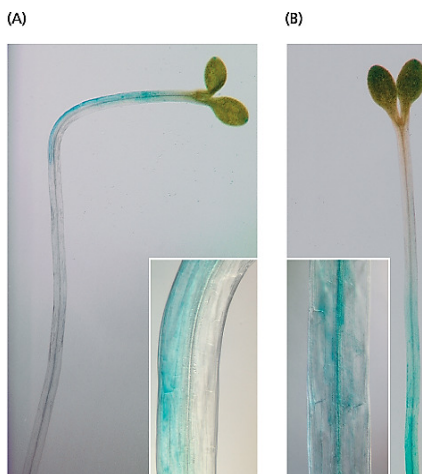


FIGURA 19.26 A redistribuição lateral da auxina durante o fototropismo pode ser visualizada pela transformação de plantas com a construção com o gene-repórter DR5::GUS. (A) Os gradientes laterais de auxina são formados em hipocótilos de *A. thaliana* durante as respostas de crescimento diferencial à luz unidirecional. O acúmulo de auxina no lado sombreado do hipocótilo é indicado pela coloração azul (detalhe à direita). (B) O tratamento com NPA, inibidor de efluxo de auxina, bloqueia a curvatura fototrópica e a redistribuição de auxina. Uma redistribuição semelhante da auxina ocorre durante o gravitropismo (fotos cortesia de Klaus Palme).

O gravitropismo envolve a redistribuição lateral de auxina

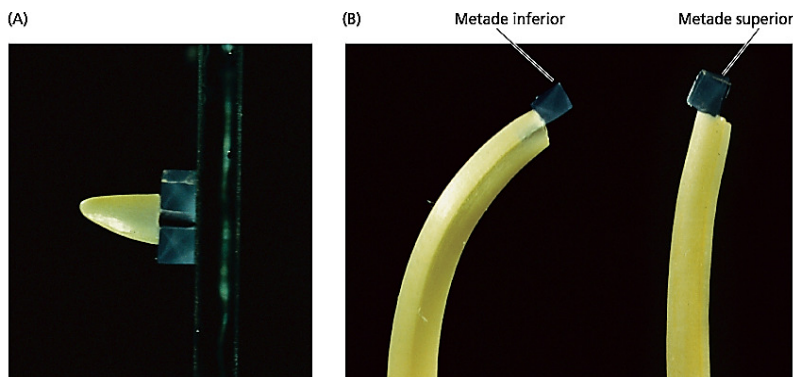


FIGURA 19.27 A auxina é transportada para o lado inferior do ápice do coleóptilo de aveia posicionado horizontalmente. (A) A auxina das metades superior e inferior de um ápice na posição horizontal difunde-se para os dois blocos de ágar. (B) O bloco de ágar da me-

tade inferior (esquerda) induz uma curvatura maior no coleóptilo decapitado do que o bloco de ágar da metade superior (direita) (fotografia © M. B. Wilkins).

Plastídios densos funcionam como sensores da gravidade (hipótese do estatólito-amido).

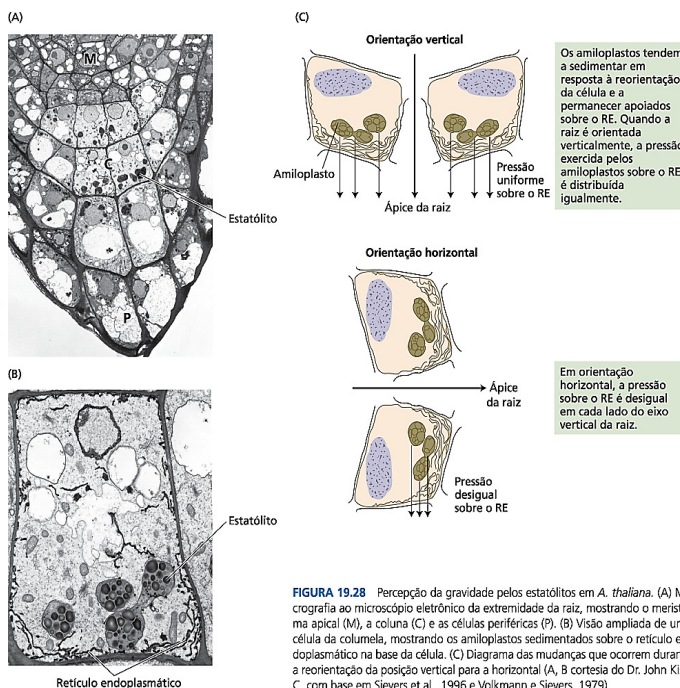


FIGURA 19.28 Percepção da gravidade pelos estatólitos em *A. thaliana*. (A) Micrografia ao microscópio eletrônico da extremidade da raiz, mostrando o meristema apical (M), a coluna (C) e as células periféricas (P). (B) Visão ampliada de uma célula da colunela, mostrando os amiloplastos sedimentados sobre o retículo endoplasmático na base da célula. (C) Diagrama das mudanças que ocorrem durante a reorientação da posição vertical para a horizontal (A, B cortesia do Dr. John Kiss; C, com base em Sievers et al., 1996 e Volkmann e Sievers, 1979).

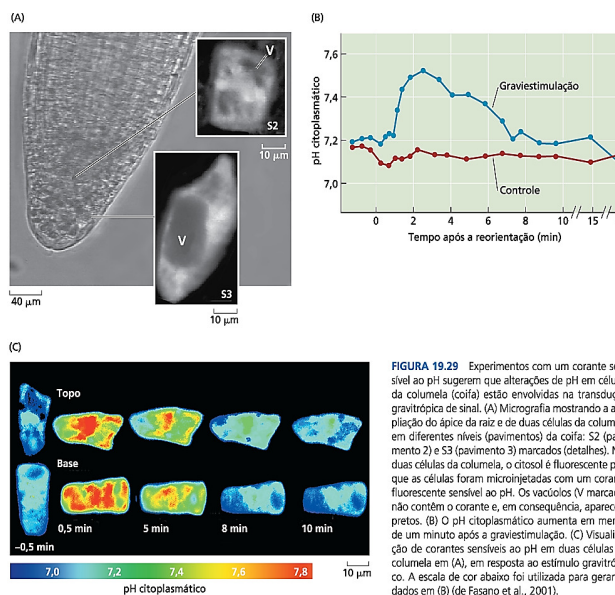
Percepção da gravidade em caules e coleótilos

Em caules e coleótilos, a gravidade é percebida na bainha amilífera, uma camada de células que circunda os tecidos vasculares do caule.

A bainha amilífera é contínua com a endoderme da raiz; porém, diferentemente da endoderme, ela possui amiloplastos.

Percepção da gravidade em raízes

O local de percepção da gravidade em raízes primárias é a coifa. Amiloplastos grandes e com resposta à gravidade localizam-se nos estatócitos no cilindro central, ou columela, da coifa.



A percepção da gravidade pode envolver pH e íon cálcio (Ca^{2+}) como segundos mensageiros.



FIGURA 19.30 Uma raiz de milho com curvatura em direção ao bloco de ágar contendo Ca^{2+} , posicionado em cada lado da coifa. O resultado mostra que um gradiente artificial de Ca^{2+} imposto pode superar a resposta normal gravitropica. Embora não pareça exercer uma função no gravitropismo, o Ca^{2+} pode ser parte de uma rota de sinalização relacionada ao tigmotropismo (cortesia de Michael L. Evans).

A auxina é redistribuída lateralmente na coifa

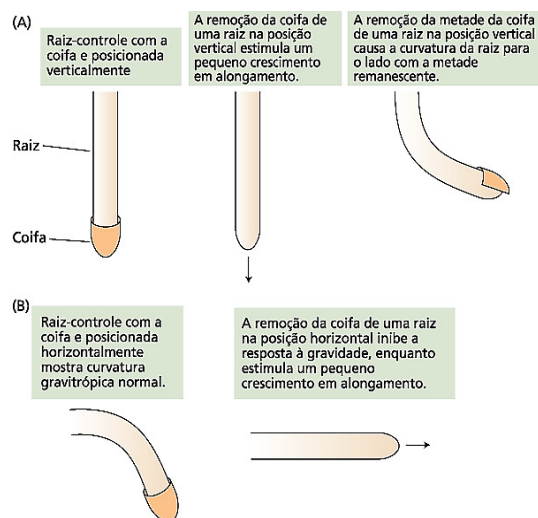


FIGURA 19.31 Experimentos de microcirurgia demonstrando que a coifa é necessária para o redirecionamento da auxina e a inibição diferencial subsequente do alongamento na curvatura gravitropica da raiz. Experimentos de genética molecular têm mostrado que, em *A. thaliana*, AUX1 é o principal motivador de correntes de auxina para fora da coifa (segundo Shaw e Wilkins, 1973).

Modelo atual de gravitropismo

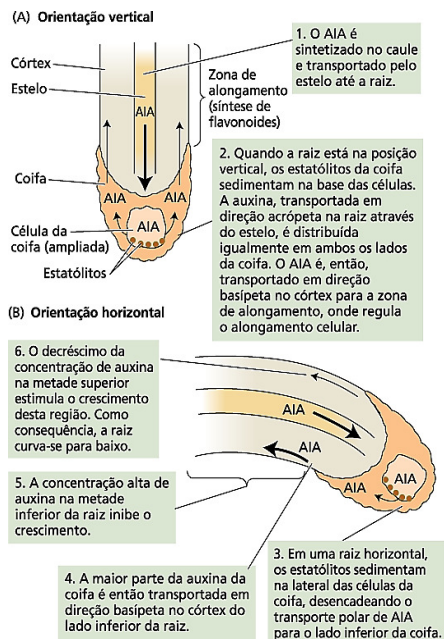


FIGURA 19.32 Modelo atual da redistribuição de auxina durante o gravitropismo, em raízes de milho (segundo Hasenstein e Evans, 1988).

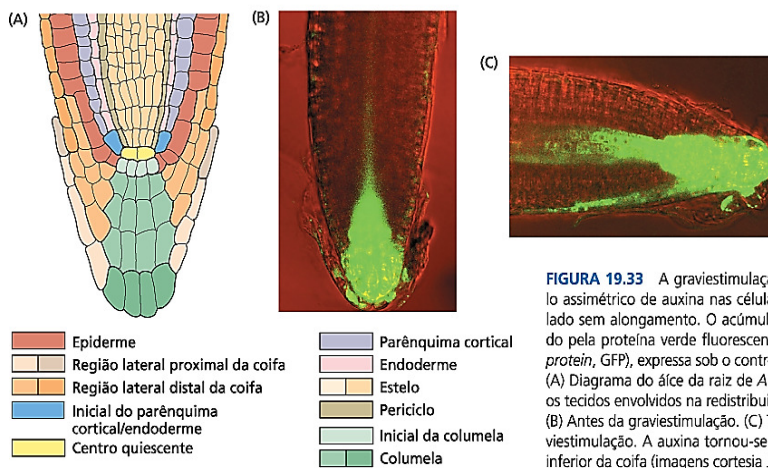


FIGURA 19.33 A graviestimulação resulta no acúmulo assimétrico de auxina nas células laterais da raiz, no lado sem alongamento. O acúmulo de auxina é indicado pela proteína verde fluorescente (*green fluorescent protein*, GFP), expressa sob o controle do promotor *DR5*. (A) Diagrama do áICE da raiz de *A. thaliana*, mostrando os tecidos envolvidos na redistribuição lateral de auxina. (B) Antes da graviestimulação. (C) Três horas após a graviestimulação. A auxina tornou-se redistribuída no lado inferior da coifa (imagens cortesia Jiří Friml).

Acredita-se que um dos membros da família das proteínas PIN, a PIN3, participa no redirecionamento da auxina nas raízes que são retiradas da orientação vertical.

Em raízes orientadas verticalmente, a PIN3 é distribuída uniformemente em torno das células da columela, mas quando a raiz é posicionada horizontalmente, a PIN3 é direcionada preferencialmente para o lado inferior dessas células.

Efeitos da auxina no desenvolvimento

Embora a auxina tenha sido descoberta em relação ao crescimento, ela influencia praticamente todos os estádios do ciclo de vida da planta, da germinação à senescência.

Visto que o efeito da auxina depende da identidade do tecido alvo, a resposta do tecido à auxina é determinada pelo seu programa genético de desenvolvimento, além de ser influenciada pela presença ou ausência de outras moléculas de sinalização.

Como será visto a interação entre dois ou mais hormônios é um tema recorrente no desenvolvimento vegetal.

Veremos, a seguir, alguns processos de desenvolvimento regulados pela auxina:

A auxina regula a dominância apical

(A) Gema terminal intacta



(B) Gema terminal removida



(C) Auxina adicionada ao caule decapitado

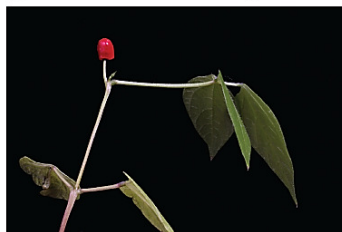


FIGURA 19.34 A auxina suprime o crescimento das gemas axilares em indivíduos de feijão (*Phaseolus vulgaris*). (A) A gema axilar é suprimida na planta intacta devido à dominância apical. (B) A remoção da gema terminal libera a gema axilar (seta) da dominância apical. (C) A aplicação de AIA em pasta de lanolina (contida em uma cápsula de gelatina) na superfície cortada impede o crescimento da gema axilar (fotografias de David McIntyre).

Como a auxina produzida no ápice do caule inibe o crescimento das gemas laterais?

- Modelo de inibição direta (Thimann & Skoog);
- A auxina atua remotamente (controla o crescimento das gemas axilares atuando no xilema e esclerênquima interfascicular do caule);
- Aplicação de citocininas nas gemas axilares estimula o crescimento das gemas em muitas espécies;
- Análise de mutantes de ervilha e *A. thaliana* com padrão de ramificação aumentado levaram à identificação de uma *strigolactona*, como o sinal que interage com auxina na regulação da dominância apical (Hayward et al., 2009).

A strigolactona é produzida em caules e raízes e é transportada através do caule, pelo xilema. Ainda não se sabe como esse sinal interage com a auxina para regular a dominância apical.

O transporte de auxina regula o desenvolvimento das gemas florais e a filotaxia

- O desenvolvimento do meristema floral depende da auxina transportada para ele, a partir de tecidos subapicais.
- O transporte de auxina a partir desses tecidos também regula a iniciação foliar e a filotaxia, ou seja, o padrão da emergência das folhas a partir do ápice caulinar.

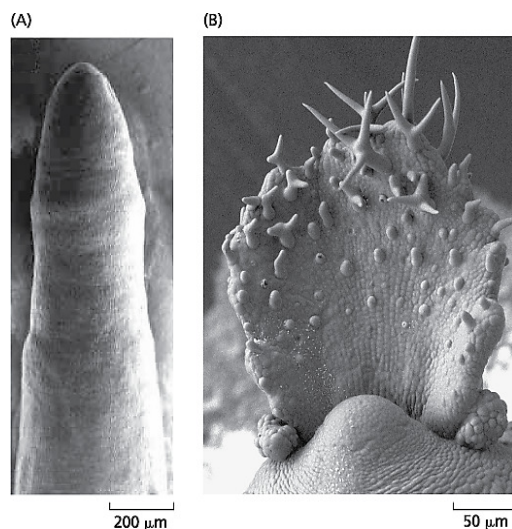


FIGURA 19.35 Imagem ao microscópio eletrônico de varredura de primórdios foliares no meristema apical do caule de um mutante *pin1*. (A) Um meristema de inflorescência *pin1* não tratado não produz primórdios foliares. (B) Primórdio foliar induzido no meristema de inflorescência de um mutante *pin1*, pela aplicação de uma microgota de AIA em pasta de lanolina no lado do meristema (A de Vernoux et al., 2000; B de Reinhart et al., 2003).

A auxina promove a formação de raízes laterais e adventícias

A análise de mutantes da *Arabidopsis* com padrão anormal de formação de raízes laterais permitiu a proposição de um modelo para a ação do AIA na formação de raízes laterais:

•O transporte acrópeto de AIA (em direção a extremidade da raiz) no parênquima vascular da raiz é necessário para iniciar a divisão celular no periciclo. O ingresso de auxina na raiz é mediado pela ação de PIN2, AUX1, ABCB19 e ABCB1.

• LAX3 (membro da família permease de auxina) medeia o ingresso de auxina em células corticais e epidérmicas da raiz, promovendo a expansão celular e modificações nas paredes celulares que facilitam a emergência de raízes laterais (fig. 19.9C) ←

• O AIA derivado da corrente basípeta de raiz contribui para o alongamento e atua em combinação com a auxina de origem caulinar, mantendo a divisão e o crescimento celulares.

A auxina induz a diferenciação vascular

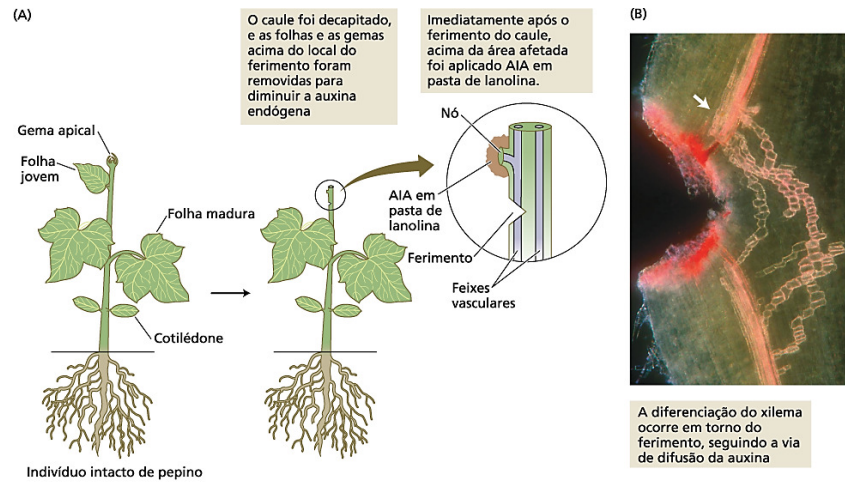


FIGURA 19.36 Regeneração do xilema induzida por AIA, em torno de um tecido danificado do caule de pepino (*Cucumis sativus*). (A) Método para realizar o experimento de regeneração de áreas danificadas. (B) Micrografia de fluorescência apresentando o tecido vascular em regeneração em torno da lesão. A seta indica o local do ferimento, onde a auxina acumula-se e começa a diferenciação do xilema (B cortesia de R. Aloni).

A auxina retarda o início da abscisão foliar

A perda de folhas, flores e frutos por uma planta é conhecida como abscisão. Esses órgãos desprendem-se da planta na zona de abscisão (as paredes celulares das células dessa região são digeridas), localizada próxima à base do pecíolo, como resultado do estresse nas paredes celulares enfraquecidas.

- A auxina transportada a partir da lâmina foliar impede a abscisão;
- A abscisão é desencadeada durante a senescência foliar, quando a auxina não está mais sendo produzida pela folha.

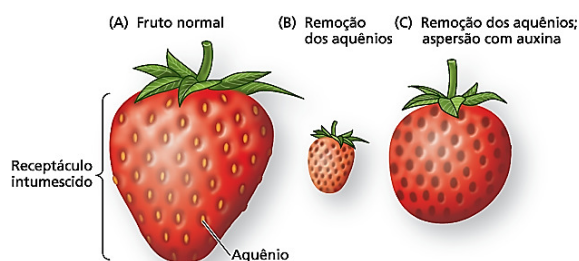
A auxina promove o desenvolvimento do fruto

A auxina é produzida ou mobilizada de reservas no pólen, e o estímulo inicial para o crescimento do fruto pode resultar da polinização.

A polinização bem sucedida inicia o crescimento do rudimento seminal, que é conhecido como estabelecimento do fruto (*fruit set*). Após a fertilização, o crescimento do fruto depende da auxina produzida nas sementes em desenvolvimento.

O endosperma pode contribuir com auxina durante o estágio inicial do crescimento do fruto e o embrião em desenvolvimento assume como a fonte principal de auxina durante os estágios seguintes.

FIGURA 19.37 O “fruto” do morango é na realidade o receptáculo intumescido, onde o crescimento é regulado pela auxina produzida pelas “sementes”, as quais são realmente os aquênios – frutos verdadeiros. (A) Quando os aquênios estão presentes, o receptáculo aumenta e desenvolve seu aroma, a doçura e a cor vermelha característicos. (B) Quando os aquênios são removidos, o receptáculo não se desenvolve normalmente. (C) A aspersão com AIA de um receptáculo que não contenha aquênios provoca a retomada do crescimento e do desenvolvimento normais (segundo Galston, 1994).



As auxinas sintéticas apresentam vários usos comerciais

- **Enraizamento de estacas para a propagação de plantas → ANA;**
- **Promoção do florescimento em abacaxi: → ANA;**
- **Desbaste de frutos;**
- **Abscisão de folhas → Algodão (ficam os capulhos, facilitando a colheita mecanizada);**
- **Indução do desenvolvimento de frutos partenocárpicos;**
- **Utilização como herbicidas → 2,4-D e Dicamba, são amplamente utilizadas. Eles induzem a excessiva expansão celular e, na sequência, a morte da planta. Utilizadas para o controle de dicotiledôneas indesejáveis (ervas daninhas de folha larga).**