

## AÇÃO AUXÍNICA

Paulo R.C. Castro<sup>1</sup>

### INTRODUÇÃO

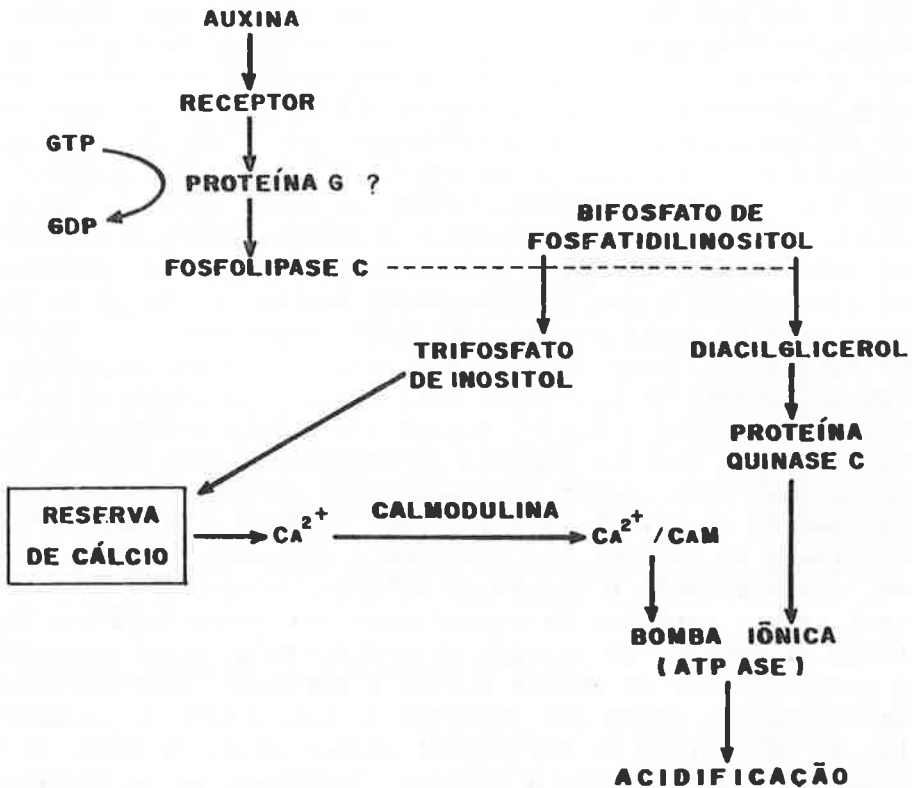
A fisiologia dos reguladores vegetais ainda não está completamente elucidada, uma vez que o modo de ação dos mesmos apresenta aspectos complexos, sendo que a interação entre os diferentes hormônios vegetais também carece de melhor compreensão. Nos últimos anos, porém, as pesquisas têm mostrado a relevância dos mensageiros secundários no modo de ação das auxinas, assim como a eficiência de bombas iônicas, ao nível da membrana plasmática, causadoras da acidificação em compartimentos da parede celular, que por sua vez exerce efeitos fundamentais na ativação e na síntese enzimática. Através da ativação enzimática, elas podem romper e refazer ligações entre componentes da parede celular, aumentando a plasticidade, possibilitando que potenciais pressão elevados levem ao crescimento celular. A acidificação também pode conduzir à síntese de enzimas capazes de incorporar ou atuar sobre polissacarídeos da parede celular, liberando oligossacarídeos que podem se ligar a receptores. Estes receptores estariam relacionados com um sistema regulatório indutivo constituído de genes sensores, integradores, receptores e estruturais (produtores). Destes últimos originaria novos RNAs para a síntese de enzimas (amilases, proteases, hidrolases, nitrato redutases, e outras) catalisadoras da síntese de compostos que atuam na morfogênese. Certamente este seria apenas um esquema desse processo, cuja complexidade intrínseca depende ainda de muitas pesquisas para ser melhor esclarecido.

---

<sup>1</sup>Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba-SP.

**MENSAGEIROS SECUNDÁRIOS**

Considera-se (Figura 1), que, para um hormônio vegetal agir, ele deve primeiramente se ligar a um receptor na membrana plasmática da célula. A interação entre o hormônio e o receptor promove a ativação de um transdutor (proteína G), assim denominado por requerer GTP (trifosfato de guanosina) que se transforma em GDP (difosfato de guanosina), segundo EVANS (1988). Este sistema leva à ativação da fosfolipase C, uma enzima que cataliza a hidrólise de 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol a 1,4,5-trifosfato de inositol e diacilglicerol, mensageiros secundários. O trifosfato de inositol liberado da membrana se transloca para o retículo endoplasmático, onde estimula a liberação de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) armazenado. O aumento na concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma, participa na ativação da proteína quinase C e também ativa proteínas-alvo diretamente, ou por meio da medição da calmodulina. Diacilglicerol e trifosfato de inositol podem ser utilizados para sintetizar novamente bifosfato de fosfatidilinositol. O metabolismo do trifosfato de inositol a inositol, durante esse processo, pode ser inibido por lítio. Fatores que participam da regulação dos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma incluem: (a) o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ , pela membrana plasmática, através de canal de  $\text{Ca}^{2+}$  carregado com certa voltagem; (b) o transporte de  $\text{Ca}^{2+}$ , para o interior do retículo endoplasmático, verifica-se por uma  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase; (c) a secreção de  $\text{Ca}^{2+}$  da célula, através da membrana plasmática, por meio de outra  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase e (d) acumulação de  $\text{Ca}^{2+}$ , no vacúolo, através de um carregador antiporte, sendo que a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$ , do vacúolo, pode também contribuir para o aumento de cálcio livre no citoplasma (EVANS & HASENSTEIN, 1987). Estas alterações em cargas podem gerar uma assimetria através da membrana, originando um gradiente eletroquímico capaz de produzir uma força prótonmotiva. Essa levaria à secreção de prótons  $\text{H}^+$  através da membrana, promovendo acidificação em compartimentos da parede celular (MITCHELL, 1966).



**Figura 1.** Mecanismo de ação auxínica envolvendo a ligação do mensageiro primário a um receptor na membrana plasmática, a produção de mensageiros secundários e a indução de uma bomba iônica promotora de acidificação.

## ACIDIFICAÇÃO E ATIVAÇÃO ENZIMÁTICA

Numerosas evidências experimentais têm demonstrado que a secreção de íons hidrogênio exerce uma ação importante na alongação rápida da parede celular. Verificou-se que a imersão de coleoptiles em uma solução com baixo pH pode promover um rápido afrouxamento da parede celular e um estímulo imediato do crescimento. Foi obtido rápido crescimento colocando-se coleoptiles em soluções saturadas com dióxido de carbono (EVANS et alii, 1971). Sugeriu-se que as rápidas respostas à auxina poderiam ocorrer através da ativação pela auxina de uma bomba de prótons na plasmalema, e que o conseqüente decréscimo do pH na parede celular seria responsável pelo crescimento. HAGER et alii (1971) consideraram que auxina atua em cooperação com trifosfato de guanosina para ativar uma bomba de prótons na membrana celular, regida por ATPase anisotrópica. Este sistema utiliza energia da respiração (trifosfato de adenosina) para elevar a concentração de prótons em um compartimento da parede celular. Isto levaria a um aumento na atividade de enzimas que promovem o afrouxamento da parede, desencadeando a alongação celular. A secreção de prótons para o interior da parede pode ser compensada por um fluxo de cátions em direção do protoplasma. Considerou-se a possibilidade da auxina ativar a extrusão eletrogênica de hidrogênio, sendo que observou-se habilidade de segmentos do hipocótilo de *Helianthus annuus* em secretarem hidrogênio como resposta à auxina. Verificou-se em segmentos do caule de *Pisum sativum*, evidência de que pode ocorrer acidificação em resposta ao tratamento com auxina. Notou-se que a extensibilidade das paredes celulares de *Valonia ventricosa* e de *Avena sativa* são similares em resposta à acidificação. Verificou-se que em ambos os sistemas a resposta à acidez pode ser inibida por cálcio e que a remoção de prótons promove o término do afrouxamento da parede celular. Os resultados com *V. ventricosa* mostraram-se de acordo com o mecanismo de afrouxamento da parede induzido pela acidez, no qual um papel importante é desempenhado pelo deslocamento do cálcio da parede, enquan-

to a parte principal do afrouxamento da parede induzido pela acidez em coleoptiles de *A. sativa* parece ocorrer por um mecanismo diferente. BATES & RAY (1979) observaram que a alongação celular é estimulada por pH baixo, sendo que esta condição parece causar a liberação de certos polissacarídeos da parede como polímeros solúveis. Isto sugere que pH pode estimular a alongação celular alterando as associações dos polissacarídeos no interior da parede. Notou-se que incubação das paredes celulares, sob pH baixo, resulta na liberação de mais polissacarídeos, sendo que sob pH alto resulta na liberação de mais proteínas. Ambos os processos são inibidos pelo cálcio. Numerosos trabalhos têm demonstrado que as auxinas poderiam estimular a atividade de enzimas sintetizadoras, capazes de promover a alongação da parede celular. ALBERSHEIM (1976) considerou que auxina poderia estimular a enzima endo trans-glicosilase, a qual possui a capacidade de romper e refazer ligações glicosídicas entre duas fibras de celulose. Isto poderia ocorrer pela ação de auxina que ativaria uma bomba iônica na membrana plasmática que resultaria em abaixamento do pH na parede que seria afrouxada mais eficientemente pela endo trans-glicosilase (Figura 2).

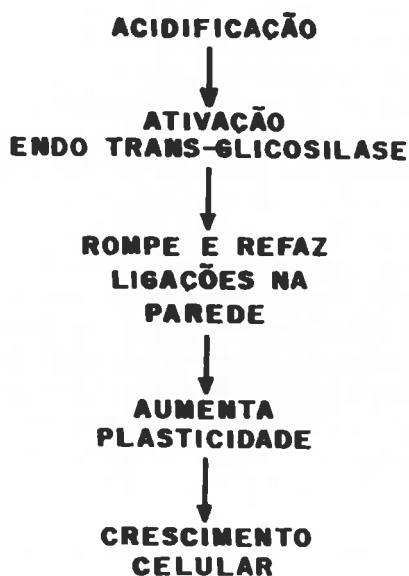
### SÍNTESE ENZIMÁTICA E OLIGOSSACARINAS

RAY (1973) observou que auxina causou um aumento de duas a quatro vezes na atividade de  $\beta$ -glucam sintetase em segmentos do caule de *Pisum sativum*, sendo que esta enzima parece ter alta afinidade por glucose uridina difosfato. Considerou-se que atividades especializadas no aparato de Golgi possuem uma ação importante na síntese e secreção de compostos que apresentam características funcionais quando atingem a parede celular. Notou-se que a indução no crescimento por auxina é mediado pela ativação do aparato de Golgi, que não somente afeta a alongação celular, mas também pode participar de processos como o transporte de auxina e a percepção do estímulo. Verificou-se que preparações de paredes das regiões de cres

cimento do epicótilo de *P. sativum* possuem atividade de  $\beta$ -1,4-glucam (celulose) sintetase, sendo que os níveis dessa enzima são afetados por tratamento com a auxina ácido indolilacético. Os resultados sugeriram que as sintetases associadas com o aparato de Golgi e o retículo endoplasmático mostram que, apesar destes não serem os locais para a síntese de celulose, representam regiões de trânsito de enzimas para os locais de ação na superfície entre o protoplasma e a parede celular. Observou-se em fibras de *Gossypium hirsutum* em desenvolvimento, que o produto obtido da ação de glucam sintetase sobre glucose uridina difosfato é um  $\beta$ -1,3-glucam. Notou-se a síntese de  $\beta$ -glucam sintetase a partir de glucose uridina difosfato, em fragmentos do tecido de *P. sativum*. Verificou-se evidência da presença de  $\beta$ -1,3-glucam em fibras de *G. hirsutum*. O tempo de deposição de  $\beta$ -1,3-glucam, durante o desenvolvimento da fibra, coincide com a síntese de celulose na parede secundária. Considerou-se que estes dois diferentes glucans não são polimerizados diretamente de uma mesma reserva de substrato. LABAVITCH & RAY (1974) observaram que a auxina promove a liberação de xiloglucam (hemicelulose) da parede celular de segmentos do caule de *P. sativum* em alongação. Auxina causa um aumento substancial de xilose e glucose em polissacarídeos solúveis em água, sendo que estes ocorrem numa fração neutra que contém uma pequena quantidade de galactose. Demonstrou-se que uma proteína rica em hidroxiprolina é exportada do protoplasma para a parede celular em *Acer pseudoplatanus* (CASTRO, 1979).

Demonstrou-se que o tratamento de caule de ervilha com auxina, não somente estimula o crescimento, mas também aumenta grandemente a atividade de uma enzima específica na parede celular do tecido. Verificou-se que essa enzima provoca a clivagem de xiloglucam da parede, originando seus oligossacarídeos constituintes, com predominância de fragmentos de nona e heptassacarídeos. Observou-se que esses fragmentos de nonassacarídeos são capazes de inibir o crescimento causado por auxina. Portanto, auxina (que geralmente estimula o crescimento do caule de

ervilha), também ativa uma enzima que libera uma oligossacarina da parede capaz de inibir o crescimento induzido por auxina. Isto poderia estar relacionado com o retroefeito promovido por xiloglucam, inibindo a produção da hemicelulose, quando se encontra em concentrações altas na parede celular. Considera-se que a auxina aumenta a atividade de uma enzima capaz de provocar a clivagem de polissacarídeos da parede, sintetizando mais essa enzima pela ativação de genes que a codificam. As oligossacarinas podem estar envolvidas com a regulação do desenvolvimento dos diferentes órgãos vegetais, controlando a morfogênese. Oligossacarídeos isolados de células de sícômo ro foram adicionados ao meio de cultura de explantes de tabaco, com o objetivo de verificar se os diferentes tipos de oligossacarinas são capazes de interferir no desenvolvimento dos órgãos. Foram testados diferentes grupos de oligossacarídeos, inclusive um, que mostrou anteriormente, a capacidade de inibir a florescência e promover o crescimento vegetativo em lentilha-da-água. Essa oligossacarina também inibiu a florescência e estimulou um prolífico crescimento vegetativo em explantes de tabaco. Na presença de outra oligossacarina, explantes que formavam gemas vegetativas, formaram flores. Ainda outra oligossacarina, fez com que esses explantes desenvolvessem um prolífico sistema radicular. A habilidade das oligossacarinas regularem o desenvolvimento de órgãos em explantes de tabaco, evidencia a possibilidade desses fragmentos da parede celular atuarem como reguladores da morfogênese em plantas (**Figura 3**). Deste modo, as auxinas ou a acidificação por elas promovida, pode evitar ou formar enzimas específicas que atuam sobre polissacarídeos formadores da parede celular, cuja clivagem libera fragmentos (oligossacarinas) específicos, capazes de controlar a morfogênese (ALBERSHEIM & DARVILL, 1985).



**Figura 2.** Acidificação em compartimentos da parede celular causando ativação de enzima capaz de romper e refazer ligações entre constituintes da parede, aumentando a plasticidade e possibilitando o efeito do potencial pressão interno no crescimento celular.





**Figura 3.** Acidificação promovendo a síntese de enzima capaz de incorporar xiloglucam à parede ou atuar sobre xiloglucam da parede celular, liberando oligossacarinas que seriam acopladas a um receptor.

### AÇÃO GÊNICA E NOVAS ENZIMAS

A regulação hormonal da síntese de ácidos nucléicos e de proteínas tem sido evidenciada em numerosos trabalhos. Os hormônios vegetais são conhecidos por afetarem os processos de desenvolvimento das plantas. Esses processos envolvem alterações na expressão gênica. Em alguns poucos casos, em que os mecanismos fisiológicos estão bem estabelecidos, os produtos gênicos de uma função conhecida, tem sido identificados e estudados ao nível molecular. Tais estudos incluem a indução de hidrolases pela giberilina na camada da aleurona de sementes, a indução de poligalacturonase pelo etileno nos frutos em maturação

e a indução de proteínas de reserva pelo ácido abscísico em endospermas ou embriões em desenvolvimento. Em todos esses casos o produto gênico é uma proteína relativamente abundante, como é também seu RNAm, sendo facilmente identificada e purificada, ao contrário do que acontece na maioria dos outros casos, como na alongação e diferenciação celular induzida por auxina (GUILFOYLE & HAGEN, 1988). Observou-se que o crescimento do tecido da medula de *Nicotiana tabacum*, induzido por auxina, é precedido por um aumento proporcional na síntese de RNA (ácido ribonucleico). Considerou-se que o crescimento depende da síntese de RNA, sendo que a síntese de proteína é um fator limitante do desenvolvimento. O local de ação da auxina na alongação celular é um sistema de ácidos nucleicos que controlam a síntese de uma proteína essencial. Verificou-se que a aplicação da auxina, ácido indolilacético, em *Pisum sativum*, resultou em um incremento na síntese de RNA. Notou-se que a incorporação de nucleotídeos marcados no interior de ácidos nucleicos é estimulado por auxinas. Inibidores da síntese de proteínas e de ácidos nucleicos têm sido correlacionados com a interferência dos mesmos no crescimento. Verificou-se que a síntese de proteína e de RNA são essenciais para o processo de alongação celular. O aumento na taxa de alongação celular por auxina exógena requer síntese adicional de proteína e de RNA. Provavelmente a taxa de formação de um RNA específico é aumentada pela auxina, levando a uma elevação no suprimento de uma enzima ou de um sistema enzimático limitante. EVANS & RAY (1969) sugeriram que a auxina provavelmente não atua na alongação de coleoptiles de *Zea mays* pela promoção da síntese de RNA de informação ou de uma proteína enzimática. Não excluem a possibilidade da auxina atuar ao nível de tradução para induzir a síntese de uma proteína estrutural de parede celular. A continuidade da síntese protéica parece ser importante para o mecanismo de expansão da parede celular. BRITTEN & DAVIDSON (1969) supõem a existência de genes produtores, além de genes receptores, que são uma seqüência de DNA (ácido desoxiribonucleico) ligada ao gene produtor que vai ser ou não transcrito. A transcrição

ocorre quando o gene receptor se associa a um RNA ativador. Existiriam ainda genes sensores que servem de ligação com agentes estimulantes. Esses agentes estimulantes são provavelmente proteínas produzidas por ação de auxinas. Ocorreriam finalmente, genes integradores, que estão ligados aos genes sensores e que produzem RNA ativador quando o gene sensor é estimulado. Este sistema indutivo de regulação para organismos superiores, seria portanto desencadeado por ação auxínica. Considerou-se a possibilidade da intervenção de um complexo auxina-proteína no DNA que permitiria a transcrição de regiões do DNA, as quais levariam mensagens para síntese de determinadas enzimas que modificariam processos metabólicos responsáveis pelo crescimento (Figura 4)

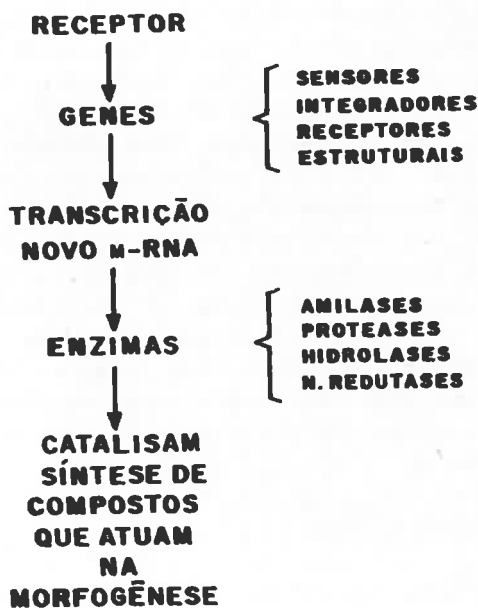


Figura 4. Receptor relacionado a um sistema regulatório indutivo, levando à transcrição de novos RNAs, capazes de possibilitar a síntese de diferentes enzimas catalisadoras da síntese de compostos que atuam na morfogênese.

## SUMMARY

## AUXINIC ACTION

We know little about the physiological mechanisms of plant hormone effects in spite of extensive research on hormone action and binding in plant cells. The investigations of the last years have shown that the knowledge about the nature of stimulus-response coupling in these cells depends that, in order for a hormone to elicit a response, it must first bind to a receptor on the plant cell. The hormone-receptor complex then causes the production of secondary messengers which acts as an effector of a membrane-bound, anisotropic ATPase or proton pump. This pump utilizes energy to raise the proton concentration in a compartment at the cell wall. This event leads to an increase in the activity of enzymes softening cell walls and thus the protoplasm pushes against the cell wall and the wall yields. Auxinin-induced wall loosening involves a reversible cleavage of cell wall polimer. The released polimer can be isolated from polysaccharide fraction of the tissue. This oligosaccharins, fragments of cell wall, are released from the cell by enzymes; different enzymes release different oligosaccharins. Producer genes are regulated by activator RNA molecules synthesized on integrator genes. The effect of the integrator genes is to induce transcription of many producer genes. This leads to the synthesis of different enzymes that regulate plant morphogenesis. The model remains tentative, but it provides a basis for reasonable speculation on how the cell wall grows.

## LITERATURA CITADA

- ALBERSHEIN, P., 1976. The primary cell wall. IN: BONNER, J. & J.E. VARNER (eds.). **Plant biochemistry**. New York, Academic Press, p.225-274.
- ALBERSHEIM, P. & A.G. DARVILL, 1985. Oligosaccharins. **Scientific American**, 253(3): 58-64.

- BATES, G.W. & P.M. RAY, 1979. pH dependent release of polymers from isolated cell walls. **Plant Physiology** (suppl.), **63**: 21.
- BRITTEN, R.J. & E.G. DAVIDSON, 1969. Gene regulation for higher cells: a theory. **Science**, **165**: 349-357.
- CASTRO, P.R.C., 1979. Mecanismo de ação auxínica. **An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, **36**: 621-634.
- EVANS, M.L., 1988. Second messengers in stimulus-response coupling in plant cells. **Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amerc. 15<sup>th</sup> Ann. Meet.**, San Antonio, p. 114-127.
- EVANS, M.L. & K. -H. HASENSTEIN, 1987. Stimulus-response coupling in the action of auxin and gravity on roots. **IN: COSGROVE, D.J. & D.P. KNIEVEL (eds.). Physiology of cell expansion during plant growth.** The Amer. Soc. Plant Physiol., p.202-214.
- EVANS, M.L. & P.M. RAY, 1969. Timing of auxin response in coleoptiles and its implications regarding auxin action. **J. Gen. Physiol.**, **53**: 1-20.
- EVANS, M.L.; P.M. RAY & L. REINHOLD, 1971. Induction of coleoptile elongation by carbon dioxide. **Plant Physiology**, **47**: 335-341.
- GUILFOYLE, T.J. & G. HAGEN, 1988. Hormone regulated gene expression in plants. **Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer. 15<sup>th</sup> Ann. Meet.**, San Antonio. p.128-134.
- HAGER, A.; H. MENZEL & A. KRAUSS, 1971. Versuche und Hypothese zur Primarwirkung des Auxins beim Streckungswachstum. **Planta**, **100**: 47-75.
- LABAVITCH, J.M. & P.M. TAY, 1974. Relationship between promotion of elongation by indoleacetic acid. **Plant Physiology**, **54**: 499-502.
- MITCHELL, P., 1966. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation. **Biological Review**, **41**: 445-502.
- RAY, P.M., 1973. Regulation of  $\beta$ -glucan synthetase activity by auxin in pea stem tissue. **Plant Physiology**, **51**: 601-608.