

## UNIDADE IX – HORMÔNIOS E REGULADORES DE CRESCIMENTO

### PARTE I – INFORMAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO
2. CONCEITOS
3. IDENTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS
  - 3.1. BIOENSAIOS
  - 3.2. ANÁLISE INSTRUMENTAL
  - 3.3. IMUNOENSAIOS
4. MECANISMO GERAL DE AÇÃO DOS HORMÔNIOS
  - 4.1. PERCEPÇÃO DO SINAL
  - 4.2. TRANSDUÇÃO E AMPLIFICAÇÃO DO SINAL
  - 4.3. RESPOSTA FINAL

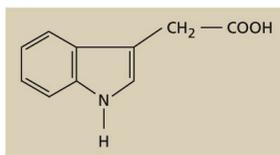
### INTRODUÇÃO

As plantas, **organismos multicelulares complexos**, necessitam para o seu desenvolvimento ordenado de um eficiente meio de comunicação entre os órgãos, tecidos e células via simplasto e/ou apoplasto.

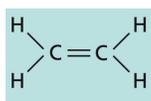
**Para coordenar suas atividades, as células da planta devem ser capazes de se comunicar a diferentes distâncias.**

A comunicação intercelular é feita pelos hormônios, **mensageiros químicos primários**, que carregam a informação entre células e, desta forma, coordenam o crescimento e desenvolvimento da planta.

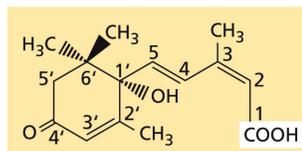
**Estudos realizados, durante o último século, têm mostrado que o desenvolvimento de plantas é regulado por cinco principais hormônios:**



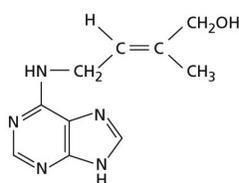
Indole-3-acetic acid (IAA) (Auxina)



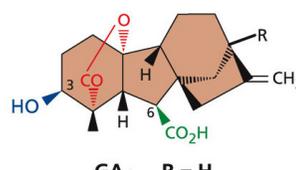
Ethylene



(S)-cis-ABA



trans-Zeatin (Citocinina)



GA<sub>4</sub> R = H  
GA<sub>1</sub> R = OH  
(Giberelina)

## OUTRAS SUBSTÂNCIAS ENVOLVIDAS NO CONTROLE DO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

### Fitohormônios (< 1,0 μM):

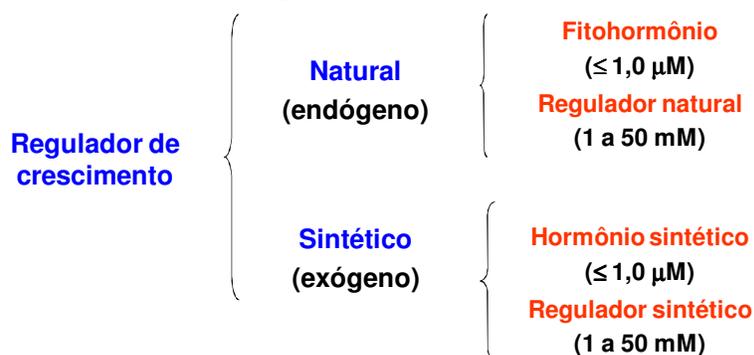
- **Brassinosteroides:** atuam na regulação da expansão e na divisão celular de caules e raízes, na fotomorfogênese, no desenvolvimento reprodutivo, na senescência foliar e em respostas a estresses;
- **Ácido jasmônico, ácido salicílico e o polipeptídeo sistemina:** atuam nos processos de resistência a patógenos e de defesa contra a herbivoria.

### Reguladores naturais do crescimento (não são fitohormônios) (1,0 a 50 mM):

- **Compostos fenólicos:** são considerados inibidores do crescimento. Ex: cumarina, ácidos cumárico e clorogênico;
- **Poliaminas:** são consideradas promotoras do crescimento. Ex: putrescina, espermidina e espermina.

## Conceitos de Hormônio e Regulador de Crescimento

- **Hormônio**: composto orgânico sintetizado em um local da planta e transportado para outro, onde, em concentração extremamente baixa ( $\leq 1,0 \mu\text{M}$ ), produz efeitos intensos sobre o crescimento e desenvolvimento.
- **Reguladores de crescimento**: compostos, naturais ou sintéticos, que atuam no controle do crescimento e desenvolvimento das plantas.



## IDENTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS

1. **BIOENSAIOS**: É a medida do efeito de uma substância biologicamente ativa, conhecida ou não, em material vivo, cuja resposta é conhecida e é proporcional à concentração da substância aplicada.
  - Para que um bioensaio seja útil ele deve ser específico, ter alta sensibilidade e dê respostas lineares.

Baseiam-se em reações de crescimento e dividem-se em três tipos:

- **Expansão celular**. Ex: teste da curvatura de coleóptilo de aveia para auxinas;
- **Divisão celular**. Ex: teste com calo de fumo para citocininas;
- **Complexos**. Ex: teste de germinação de sementes para inibidores do crescimento e teste de crescimento de planta inteira para giberelinas.

## 2. ANÁLISE INSTRUMENTAL:

Utilização de técnicas físico-químicas, tais como **HPLC** (cromatografia líquida de alto desempenho) e **cromatografia gasosa em conjunto com a espectrometria de massa** o que permite a **análise quantitativa** de hormônios com rapidez, precisão e alta sensibilidade.

## 3. IMUNOENSAIOS:

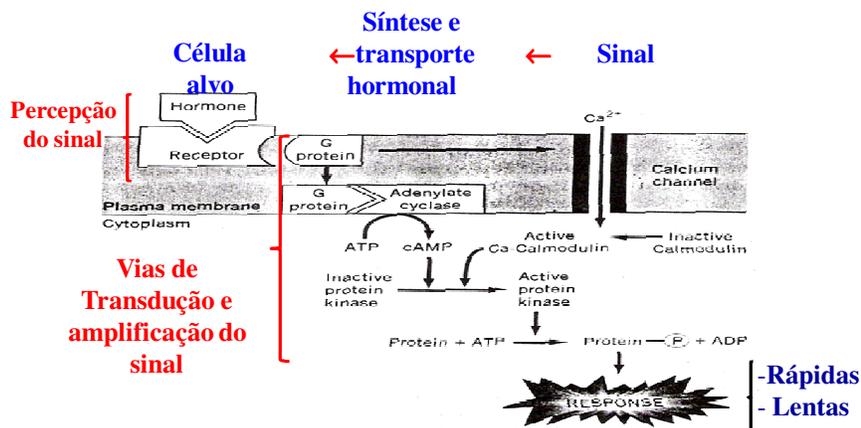
- **Radioimunoensaio** – Empregam anticorpos (produzidos em animal) que reagem com o hormônio (antígeno). A quantificação é feita pela diferença em radioatividade entre a amostra e o controle.
- **Teste de ELISA** (Enzyme-linked immunosorbent assay)– A enzima fosfatase alcalina é ligada ao anticorpo e, a reação da enzima é usada para quantificar o imunoprecipitado.

## Mecanismo geral de ação dos hormônios

A sequência de eventos iniciada pelos hormônios pode geralmente ser apresentada em três etapas:

1. **Percepção do sinal** (sinal ambiental ou do desenvolvimento);
2. **Vias de transdução e amplificação do sinal;**
3. **Resposta final** (rápidas ou lentas).

## MECANISMO GERAL DE AÇÃO DOS HORMÔNIOS



- Programa de desenvolvimento
- Concentração de mensageiros secundários

## UNIDADE IX – HORMÔNIOS E REGULADORES DE CRESCIMENTO

### PARTE II – PRINCIPAIS CLASSES DE HORMÔNIOS:

#### AUXINAS (HORMÔNIO DO CRESCIMENTO)

1. DESCOBERTA
2. OCORRÊNCIA E METABOLISMO
3. TRANSPORTE DO AIA
4. PAPEL FISIOLÓGICO
  - 4.1. ALONGAMENTO CELULAR
  - 4.2. TROPISMO E NASTISMO
  - 4.3. DOMINÂNCIA APICAL
  - 4.5. ABCISÃO FOLIAR
  - 4.6. DESENVOLVIMENTO DE FRUTOS
  - 4.7. USO COMERCIAL DE AUXINAS SINTÉTICAS
5. MECANISMO DE AÇÃO

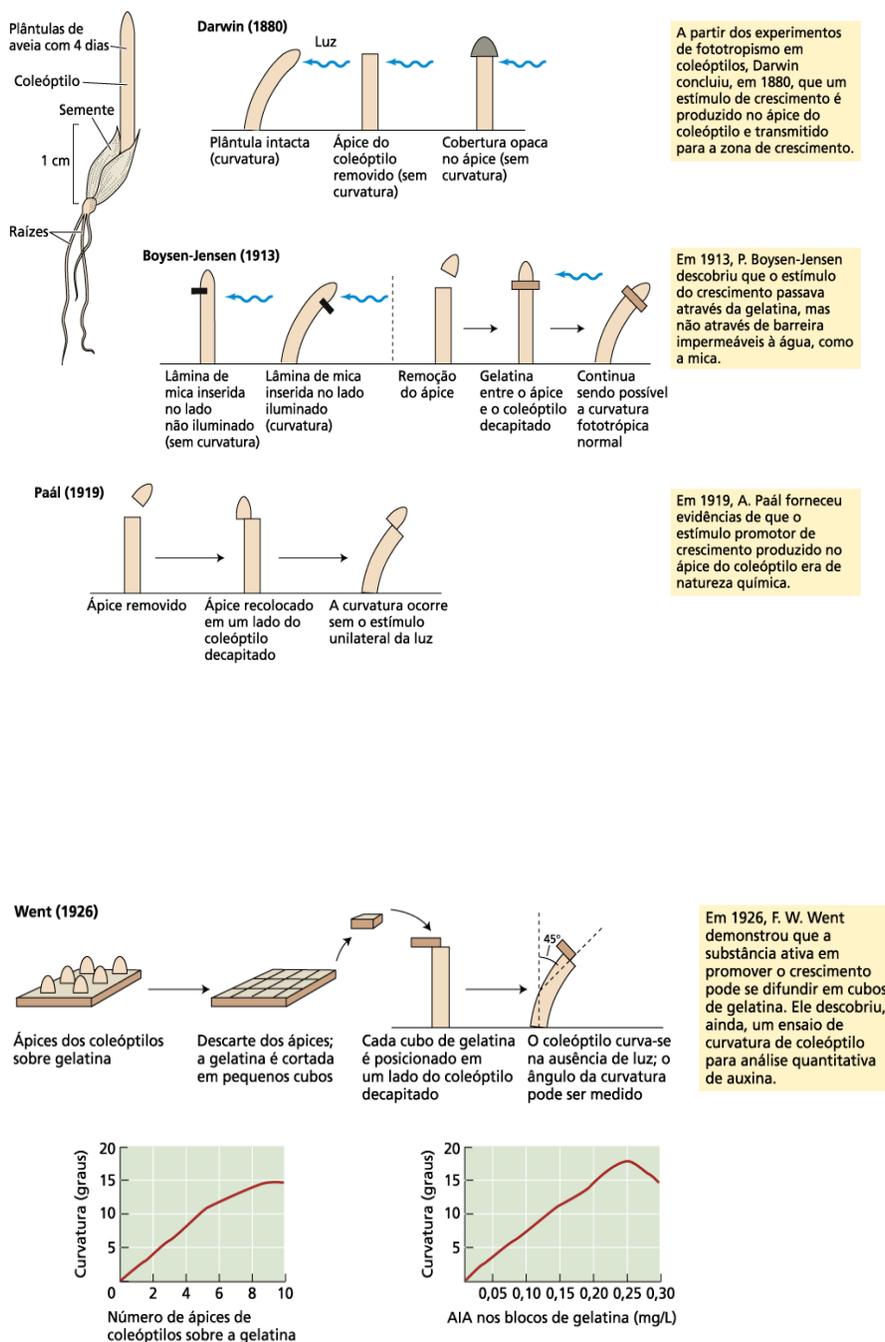


FIGURA 19.1 Resumo dos primeiros experimentos realizados na pesquisa com auxina.

**Em 1926, F. W. Went demonstrou que a substância ativa em promover o crescimento pode se difundir em cubos de gelatina. Ele desenvolveu o ensaio de curvatura de coleóptilo para análise quantitativa de auxina.**

## Descoberta da auxina

Os estudos desenvolvidos por Went (1926) demonstraram que o crescimento em curvatura do coleóptilo em resposta à luz (iluminação unidirecional), era influenciado por uma substância química produzida no ápice do coleóptilo.

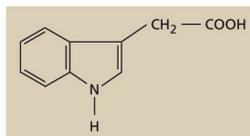
Essa substância era transportada lateralmente para o lado sombreado, onde ocorria um maior crescimento.

Essa substância se enquadra no conceito de hormônio, visto que é produzida em um local e transportada para o local de ação.

Como esta substância promove o alongamento de células do coleóptilo foi denominada de **AUXINA** (palavra de origem grega que significa “crescer”).

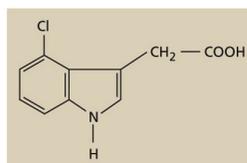
Na década de 1930 dois grupos de pesquisadores (**Kölg & Haagen-Smith na Holanda e Thimann nos Estados Unidos**) identificaram a auxina como sendo o ácido indol-3-acético (AIA). Posteriormente, outras auxinas naturais foram descobertas. Porém, o AIA é o mais relevante do ponto de vista fisiológico.

(A)



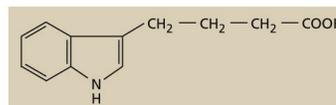
Indole-3-acetic acid  
(IAA)

Ocorre em todos  
os vegetais



4-Chloroindole-3-acetic acid  
(4-Cl-IAA)

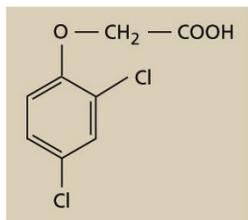
Sementes de  
leguminosas



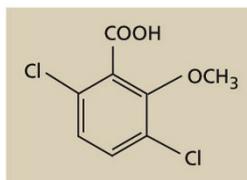
Indole-3-butyric acid  
(IBA)

Mostarda e  
Milho

Devido a relativa simplicidade da estrutura do AIA, foram sintetizadas várias substâncias com atividade auxínica, e denominadas de auxinas sintéticas.



2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)



2-Methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid (dicamba)

Estruturas de duas auxinas sintéticas. A maioria das auxinas sintéticas é utilizada como herbicida na horticultura e na agricultura.

### Definição de auxinas

#### Definição inicial:

São todas as substâncias naturais e sintéticas que estimulam o alongamento em coleótilos e em segmentos de caules.

#### Definição atual:

Qualquer substância que tem um espectro de atividade biológica semelhante, porém, não necessariamente, idêntico àquele do AIA (Cleland, 1996).

#### Isto inclui a indução:

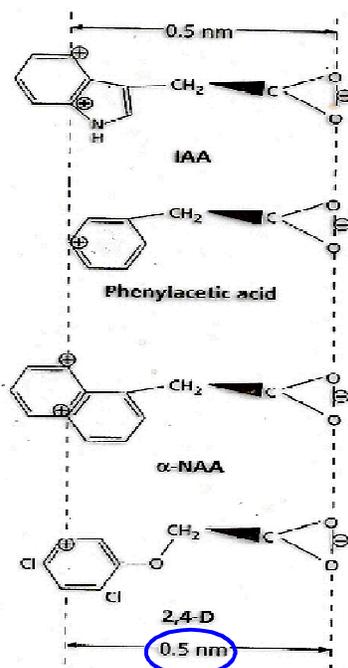
- do alongamento celular em coleótilos isolados ou segmentos de caule;
- da divisão celular em *callus* na presença de citocininas;
- de raízes laterais em estacas de caule;
- do crescimento de frutos partenocárpicos;
- da produção de etileno.

## Antiauxinas

Alguns compostos sintéticos, como por exemplo, o Ácido  $\alpha$ -(p-clorofenoxi) isobutírico (PCIB), atuam inibindo os efeitos das auxinas.

Estes compostos são conhecidos como **ANTIAUXINAS** e, quando aplicados às plantas, podem competir com o AIA pelos sítios de ligação dos receptores específicos, inibindo a ação normal de auxinas.

Esta inibição pode ser corrigida pela adição de AIA em excesso, indicando que auxinas e antiauxinas competem pelos sítios de ligação dos receptores (**Inibição competitiva**).



### Teoria conformacional de Thimann (1963)

A separação de cargas negativa e positiva de 0,5 nm (em pH neutro) parecer ser um requerimento estrutural essencial para que a molécula tenha atividade auxínica.

## Ocorrência do AIA em plantas

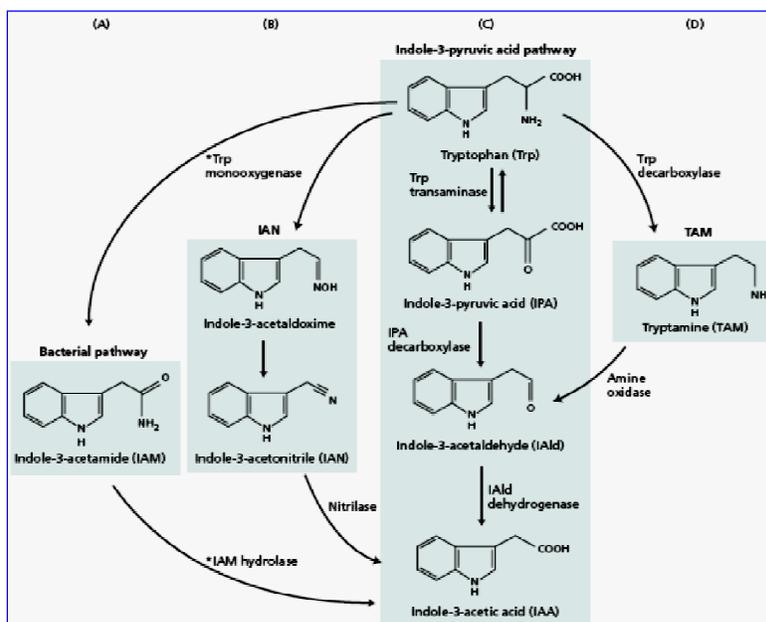
O AIA é de ocorrência bastante ampla no reino vegetal.

Em plantas, o AIA está presente em órgãos de crescimento ativo, tais como:

- Meristemas apicais da parte aérea;
- Folhas jovens; e
- Frutos em desenvolvimento.

**Sendo estes os sítios primários de biossíntese do AIA.**

Rotas de biossíntese de AIA dependentes do triptofano em plantas e bactérias. As enzimas que estão presentes somente em bactérias estão marcadas com um asterisco (Bartel, 1997).



## AIA conjugado:

- **Baixa massa molecular: Alguns atuam como uma reserva hidrolisável e outros como intermediários nos processos de degradação.**
- **Incluem ésteres de AIA com grupo metila, glicose ou *mio*-inositol, além de conjugados de amida, tais como o AIA-aspartato.**
- **Alta massa molecular: Esses conjugados parecem ter função na estocagem reversível do AIA.**
- **AIA-peptídios e AIA-glicoproteínas (encontradas em sementes de cereais);**
- **AIA-glucanos (7 a 50 glicose).**

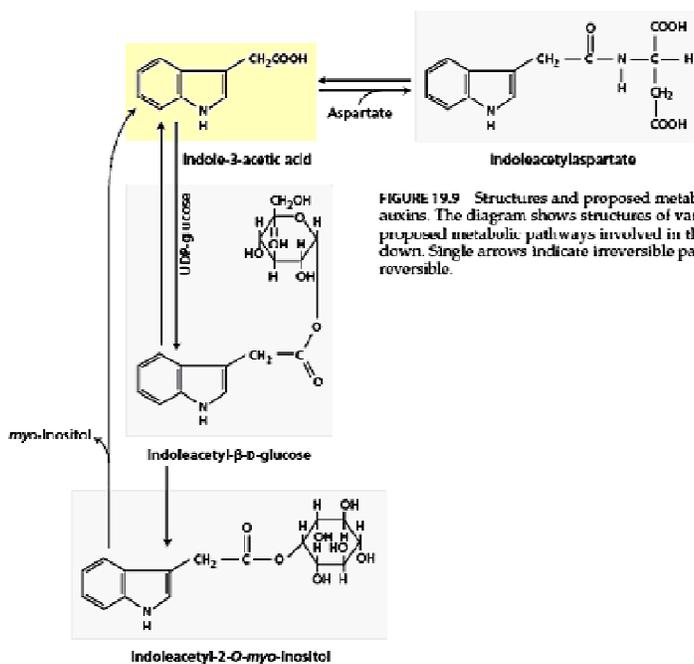
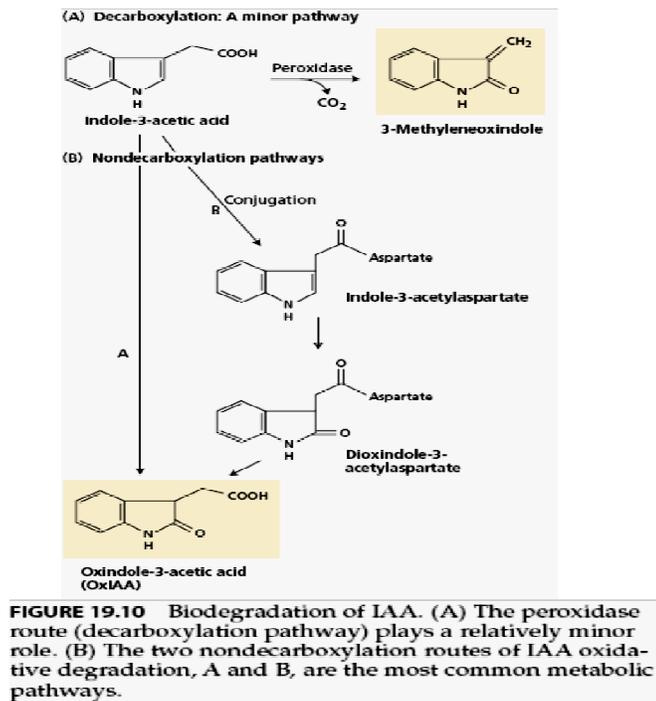


FIGURE 19.9 Structures and proposed metabolic pathways of bound auxins. The diagram shows structures of various IAA conjugates and proposed metabolic pathways involved in their synthesis and breakdown. Single arrows indicate irreversible pathways; double arrows, reversible.



## Transporte de AIA

Há mais de 50 anos foi evidenciado, em segmentos de coleótilos isolados, que o AIA move-se do ápice para a base (movimento basípeto).

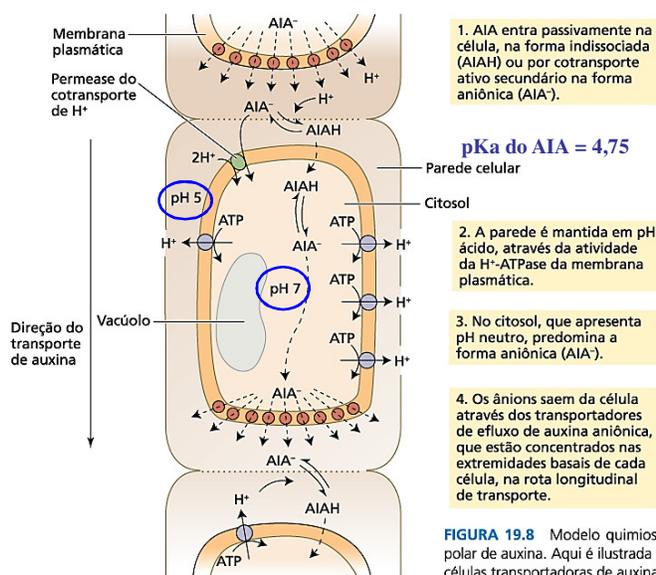
Este tipo de transporte é denominado de **TRANSPORTE POLAR BASÍPETO**. A auxina é o único hormônio vegetal transportado desta forma.

Como o ápice da parte aérea é a principal fonte de auxina para toda a planta, o transporte polar contribui para a formação de um gradiente decrescente de auxina até as raízes.

**Este gradiente longitudinal de auxina parece controlar vários processos fisiológicos que ocorrem na planta.**

**A elucidação do mecanismo quimiosmótico para o transporte de solutos (Mitchel, 1960), permitiu a criação de um modelo para explicar o transporte polar de auxinas.**

### Modelo quimiosmótico simplificado para o transporte polar da auxina



**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 sítios de exportação e em fileiras de células adjacentes.

**Obs 1: O AIA sintetizado nas folhas parece ser transportado para o resto da planta, via floema;**

**Obs 2: Evidências sugerem que o transporte de AIA pelo floema é importante para controlar a atividade do câmbio vascular e formação de raízes laterais;**

**Obs 3: Em algumas situações, o AIA conjugado parece ser transportado pelo floema para as regiões de crescimento.**

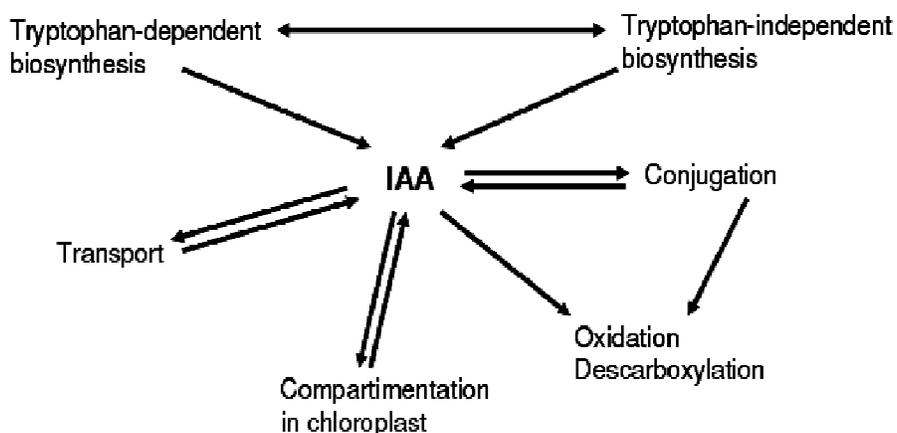


Figura 9 – Fatores que influenciam os níveis de AIA livre (representada pelo ácido indol acético - AIA ou IAA) em células de plantas (Taiz & Zeiger, 1998).

## Papel fisiológico

- Promoção do crescimento de caules e de raízes (indução do alongamento celular)

O suprimento constante de auxinas para a região subapical do caule ou do coleótilo é requerido para o continuado alongamento das células.

As respostas de raízes e da parte aérea às auxinas são similares, exceto que a concentração ótima de auxina é muito menor nas raízes.

[auxina] em caules:  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  molar;

[auxina] em raízes:  $10^{-10}$  a  $10^{-8}$  molar.

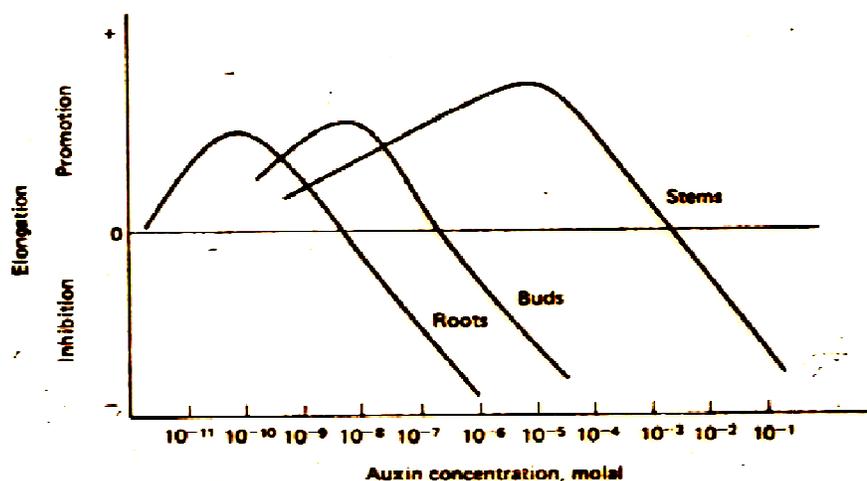


Figure 8. Inhibition and growth promotion of different organs as a function of auxin concentration. After Thimann, 1937 (Fig. 2).

Para entendermos o papel das auxinas na indução do alongamento celular, deve-se lembrar que a expansão da célula vegetal é função de:

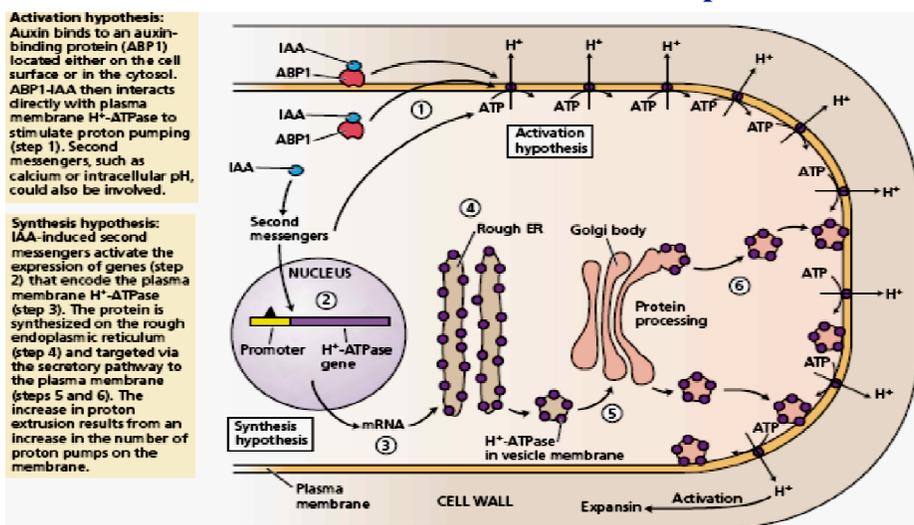
$$\text{Taxa de crescimento} = m (\Psi_p - Y)$$

Então, para que ocorra crescimento, a célula deve absorver água do apoplasto impulsionada pela  $\Delta\Psi_w$ .

A entrada de água na célula aumenta o  $\Psi_p$ . Quando o valor de  $\Psi_p$  supera a pressão limite ( $Y$ ), a parede se distende e a célula cresce.

A hipótese aceita para explicar o efeito das auxinas no alongamento celular é conhecida como **HIPÓTESE DO CRESCIMENTO ÁCIDO**.

### Modelos atuais de extrusão de $H^+$ induzido por AIA.



Em muitas plantas, os dois mecanismos podem ocorrer. Independente de como o bombeamento de  $H^+$  seja aumentado, o afrouxamento da parede induzido pela acidez é mediado pelas expansinas.

## O movimento em plantas

- O movimento em plantas não envolve locomoção, porém é o fator chave que determina a orientação da planta no espaço.
- São reconhecidas duas categorias principais de movimento em plantas:
  - Movimento por crescimento: São irreversíveis e resultam do crescimento diferencial dentro de um mesmo órgão;
  - Movimento por variação de turgescência: São reversíveis, resultando em variação de volume de certas células, mais frequentemente associadas a um órgão especial, como o pulvino.

Dentro destas duas categorias, pode-se distinguir:  
a nastia e o tropismo.

### NASTIA

Movimento desencadeado por estímulos ambientais nos quais a direção do estímulo não determina a direção do movimento.

#### 1. MOVIMENTO POR CRESCIMENTO

Ocorre crescimento diferenciado em lados opostos de um mesmo órgão:

- EPINASTIA - Diferença na concentração de auxina;
- HIPONASTIA - Movimento induzido por giberelinas;
- TERMONASTIA - Variação de temperatura.

#### 2. MOVIMENTO POR VARIAÇÃO DE TURGOR

Ocorre com a modificação de turgescência em células especializadas:

- NICTINASTIA - Variação de intensidade luminosa;
- TIGMONASTIA - (SISMONASTIA) - Estímulos mecânicos;
- HIDRONASTIA - Gradiente de potencial hídrico.



Figura 11 – O movimento sismonástico de plantas de *Mimosa pudica* (Hopkins, 2000).

## TROPISMO

**Movimento de crescimento desencadeado por estímulos ambientais nos quais a direção do estímulo determina a direção do movimento:**

- **FOTOTROPISMO** - Movimento de crescimento direcional induzido pela luz;
- **GRAVITROPISMO** - Movimento de crescimento direcional induzido pela gravidade;
- **TIGMOTROPISMO** - Resposta de crescimento orientada pelo contato;
- **HIDROTROPISMO** - Resposta de crescimento orientada pelo gradiente de água;
- **QUIMIOTROPISMO** - Resposta de crescimento orientada pelo gradiente de agentes químicos.

## DIREÇÃO DO TROPISMO

- **ORTOTROPISMO POSITIVO:** Movimento em direção à fonte do estímulo;
- **ORTOTROPISMO NEGATIVO:** Movimento em direção contrária ao estímulo;
- **DIATROPISMO:** Movimento em ângulo de 90° em relação ao estímulo;
- **PLAGIOTROPISMO:** Movimento em ângulo entre 0° e 90° Em relação ao estímulo.

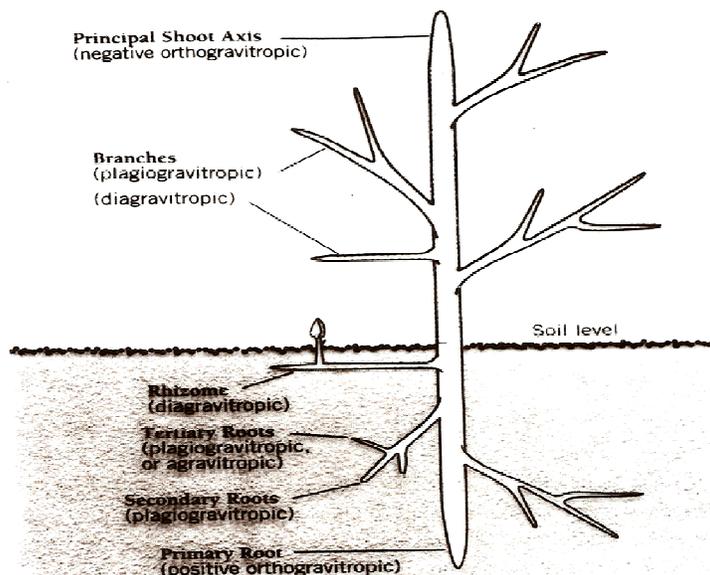
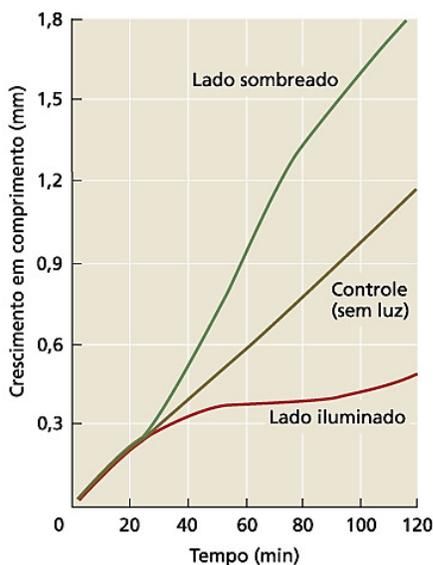


Diagrama ilustrando as respostas gravitrópicas em caules e raízes.

De acordo com o modelo clássico de Cholodny-Went para o fototropismo, os ápices dos coleótilos de gramíneas teriam três funções especializadas:

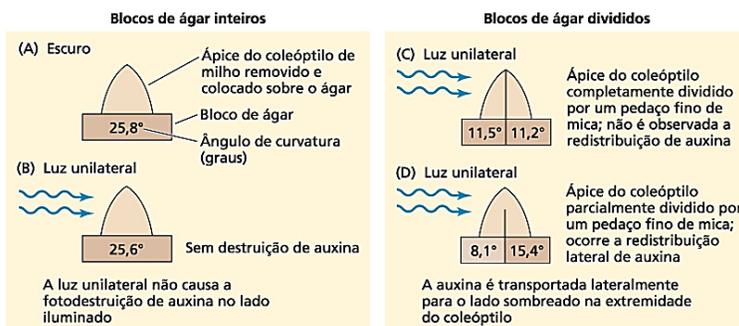
1. Produção de AIA;
2. Percepção do estímulo luminoso; Flavoproteínas (grupo prostético: FMN) seriam fotorreceptores do fototropismo (percepção da luz azul) – Fototropina I e II.
3. Transporte do AIA para o lado não iluminado em resposta ao estímulo fototrópico.



O crescimento dos lados sombreado e iluminado de coleótilos

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

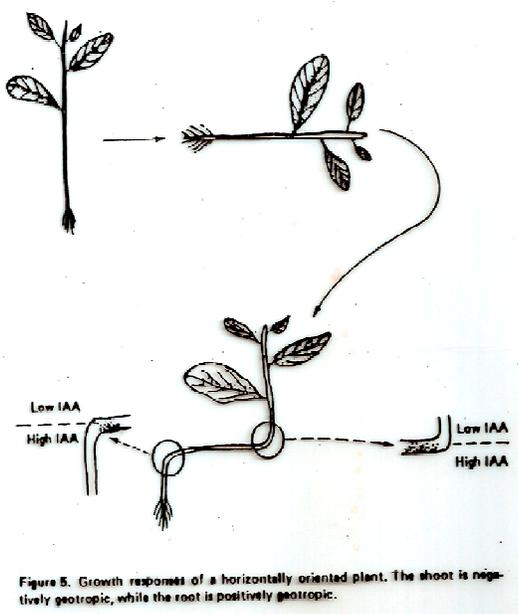
## Evidência de que a redistribuição lateral de auxina é estimulada pela luz unidirecional em coleótilos de milho.



**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).

## GRAVITROPISMO



## Modelo proposto para a redistribuição da auxina durante o gravitropismo em raízes de milho.

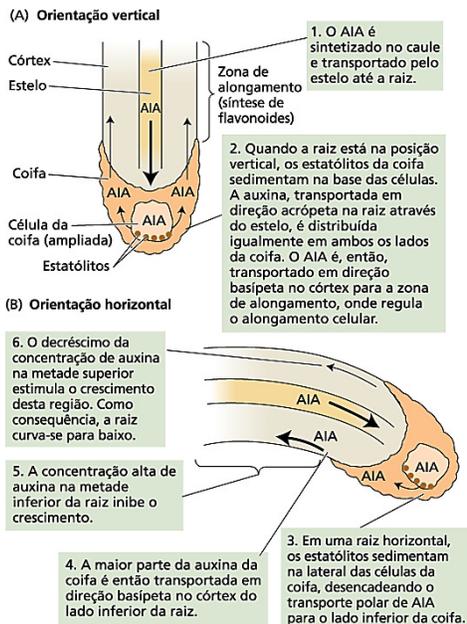
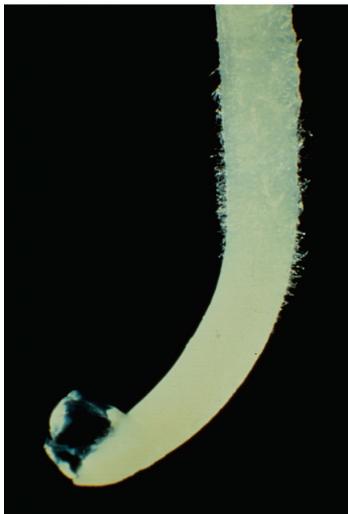


FIGURA 19.32 Modelo atual da redistribuição de auxina durante o gravitropismo, em raízes de milho (segundo Hasenstein e Evans, 1988).



Raiz de milho com curvatura em direção ao bloco de ágar contendo cálcio, posicionado ao lado da coifa.

## A percepção da gravidade pode envolver cálcio e pH como mensageiros secundários.

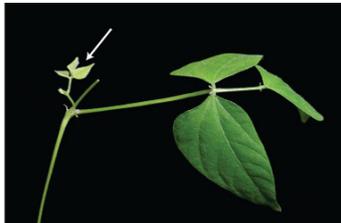
**Obs: Em caules e coleótilos, a gravidade é percebida pela bainha de amido, uma camada de células que circunda os tecidos vasculares da parte aérea.**

## A auxina regula a dominância apical

(A) Gema terminal intacta



(B) Gema terminal removida



(C) Auxina adicionada ao caule decapitado

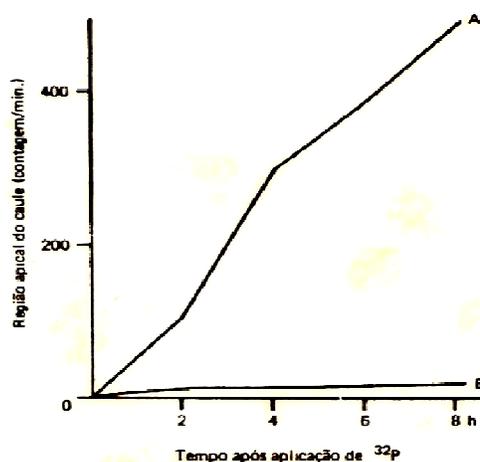


**FIGURA 19.34** A auxina suprime o crescimento das gemas axilares em indivíduos de feijão (*Phaseolus vulgaris*). (A) A gema axilar é suprimida na planta intacta devido à dominância apical. (B) A remoção da gema terminal libera a gema axilar (seta) da dominância apical. (C) A aplicação de AIA em pasta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

### Hipóteses:

1. ↓ [Auxina];
2. ↓ Razão Aux/Cit;
3. [ABA] diminui;
4. Mobilização de nutrientes.

### Agente mobilizador de nutrientes



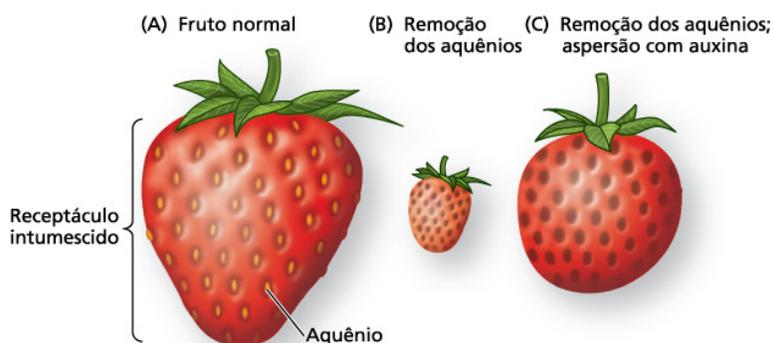
Aplicação de AIA na região apical do caule de plantas de ervilha decapitadas induz movimento de  $^{32}\text{P}$ -ortofosfato da base do caule (local de aplicação) para a região apical (local tratado com AIA). A – tratado com AIA; B- não tratado. (Modificado de Davies e Wareing, 1965).

## 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 sofrido 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



**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).

## **A auxina promove partenocarpia**

**Em algumas espécies, frutos sem sementes podem ser produzidos naturalmente ou artificialmente (induzidos pelo tratamento de flores não polinizadas com aplicação de auxina).**

**Esta produção de frutos sem sementes é denominada de partenocarpia.**

**As auxinas parecem induzir primariamente o estabelecimento do fruto.**

### **A partenocarpia ocorre devido:**

- 1. Ao desenvolvimento do fruto sem ocorrer a polinização. Ex: Tomate, pimenta, banana etc.**
- 2. Ao desenvolvimento do fruto estimulado pela polinização sem que o crescimento do tubo polínico atinja o óvulo. Ex: Orquídea.**
- 3. À absorção do embrião antes que o fruto atinja a sua maturidade. Ex: Cereja, pêsego etc.**

## Uso comercial de auxinas sintéticas na agricultura

- **Enraizamento de estacas para a propagação de plantas → ANA;**
  - **Floração do abacaxi → ANA;**
  - **Desbaste de frutos;**
  - **Abscisão de folhas → Algodão (ficam os capulhos, facilitando a colheita mecanizada).**
- 
- **Produção de frutos partenocárpicos;**
  - **Utilização como herbicidas → 2,4-D e Dicamba são amplamente utilizadas como herbicidas que induzem a excessiva expansão celular e, na sequência, a morte da planta. Auxinas sintéticas são utilizadas pelos agricultores para o controle de dicotiledôneas indesejáveis (*ervas daninhas de folhas largas*) em culturas comerciais de cereais.**

## **MECANISMO DE AÇÃO DAS AUXINAS**

<b>PERCEPÇÃO DO SINAL:</b>	<b>ABP<sub>1</sub></b> (auxin-binding protein)
<b>TRANSDUÇÃO E AMPLIFICAÇÃO DO SINAL:</b>	<b>AMPcíclico, [Ca<sup>2+</sup>] citosólico e pH intracelular</b>
<b>RESPOSTA FINAL:</b>	
<b>RESPOSTAS RÁPIDAS:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ENVOLVE MUDANÇAS NA ATIVIDADE DE PROTEÍNAS <b>(ENZIMAS, CANAIS, ETC.)</b></li> </ul>
<b>RESPOSTAS LENTAS:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ENVOLVE MUDANÇAS NA EXPRESSÃO DE GENES, <b>QUE PODEM SER:</b></li> </ul>
<b>GENES DE RESPOSTA PRECOCE:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>FATORES DE TRANSCRIÇÃO PRESENTES</b></li> </ul>
<b>GENES DE RESPOSTA TARDIA:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>FATORES DE TRANSCRIÇÃO AUSENTES (NECESSITA SUA EXPRESSÃO)</b></li> </ul>