

UNIDADE IX – HORMÔNIOS E REGULADORES DE CRESCIMENTO

• PARTE II – PRINCIPAIS CLASSES DE HORMÔNIOS:

CITOCININAS (REGULADORES DA DIVISÃO CELULAR)

1. DESCOBERTA, IDENTIFICAÇÃO E PROPRIEDADES
2. OCORRÊNCIA, METABOLISMO E TRANSPORTE
3. PAPEL FISIOLÓGICO
 - 3.1. MORFOGÊNESE EM CULTURA DE TECIDOS
 - 3.2. CICLO CELULAR EM PLANTAS
 - 3.3. DOMINÂNCIA APICAL E CRESCIMENTO DE GEMAS
 - 3.4. SENESCÊNCIA DE FOLHAS E MOBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES
 - 3.5. MATURAÇÃO DE CLOROPLASTOS
 - 3.6. OUTROS PAPEIS
4. MECANISMO DE AÇÃO

HISTÓRICO SOBRE CITOCININAS

HABERLANDT (1913) – Descobriu que um composto presente nos tecidos vasculares de várias espécies vegetais estimulava a divisão celular (induzia a formação de felogênio e a cicatrização de “feridas” em tubérculos de batata);

van OVERBEEK (década de 1940) – Observou que o endosperma líquido de coco é rico em substâncias que promovem a divisão celular;

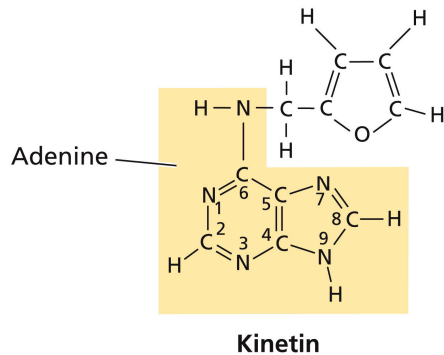
SKOOG & col. (início da década de 1950) – Verificaram e confirmaram os resultados de **Haberlandt**: células de medula de fumo cresciam mais rapidamente quando se colocava tecido vascular sobre a medula;

STEWART (década de 1950) – Confirmou os resultados de van Overbeek, ou seja, a água de coco continha várias “cinetinas”;

MILLER & col. (1954) – Usando meio de cultura básico (sacarose, íons inorgânicos, vitaminas e aminoácidos) acrescido de diferentes substâncias, observaram que **DNA envelhecido na presença de AIA** apresentava a melhor resposta na indução da divisão celular. Concluíram que um produto da degradação do DNA deveria ser o fator de divisão celular;

MILLER & SKOOG (1957) – Deram o nome de **cinetina** à substância responsável pela indução da citocinese, que foi identificada por eles como sendo a **6-furfurilaminopurina** (1ª citocinina sintética);

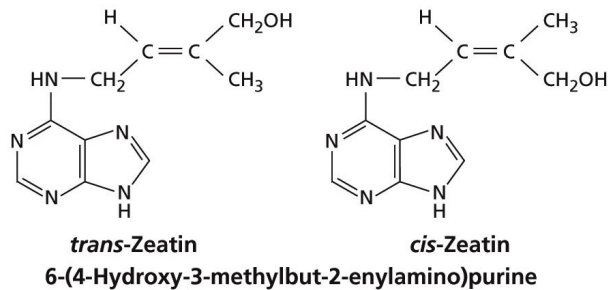
A **CINETINA, 6-furfurilaminopurina** (1ª citocinina sintética), foi descoberta como um produto da quebra do DNA envelhecido (autoclavagem).



Na década de 1960 estas substâncias foram denominadas de **citocininas**.

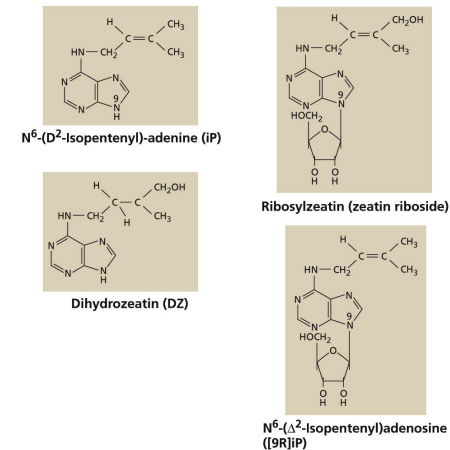
LETHAM (1973) – Isolou de sementes jovens de milho a zeatina (1ª citocinina natural) e seu ribonucleosídeo e demonstrou em 1974 que a zeatina era também encontrada em endosperma de coco.

A zeatina é a citocinina de maior ocorrência natural

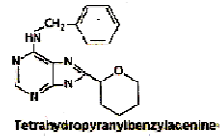
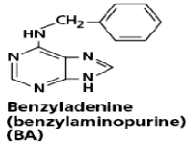


A citocinina com atividade hormonal é a base livre.

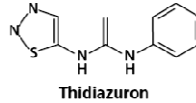
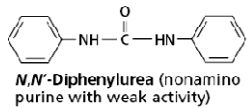
Estruturas de outras aminopurinas que são citocininas naturais.



Citocininas sintéticas de natureza purínica

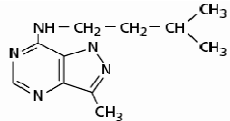


Citocininas sintéticas derivadas do difeniluréia



← Usado
comercialmente
como
desfolhante e
herbicida.

Antagonista da citocinina (competição)



Características das citocininas

- ❖ As citocininas têm sido detectadas em angiospermas (**maioria**), diatomáceas, algas, musgos, pteridófitas e coníferas. A sua função reguladora foi demonstrada somente em angiospermas, coníferas e musgos;
- ❖ Algumas bactérias e fungos fitopatogênicos, insetos e nematódeos sintetizam e secretam citocininas livres:
- Bactérias formam a galha da coroa (*Agrobacterium tumefaciens*) e a vassoura-de-bruxa (*Corynebacterium fascians*);



FIGURE 21.1 Tumor that formed on a tomato stem infected with the crown gall bacterium, *Agrobacterium tumefaciens*. Two months before this photo was taken the stem was wounded and inoculated with a virulent strain of the crown gall bacterium. (From Aloni et al. 1998, courtesy of R. Aloni.)



FIGURA 21.3 Vassoura-de-bruxa em *Abies balsamea*.

- Fungos formam as micorrizas;
- Insetos induzem a formação de galha e a utilizam como local de alimentação;
- Nematódeos produzem células gigantes das quais obtêm seu alimento.

- ❖ Os locais de síntese de citocininas são os meristemas das raízes (principal), além de embrião de sementes em desenvolvimento e folhas e frutos jovens;
- ❖ O transporte de citocininas é regulado por um "sinal" proveniente do caule (não identificado);
- ❖ O transporte de citocininas, sob a forma de ribosídeo da zeatina, é feito principalmente pelo xilema, mas ocorre também pelo floema.

As citocininas também estão presentes em alguns tRNA de células de plantas e de animais.

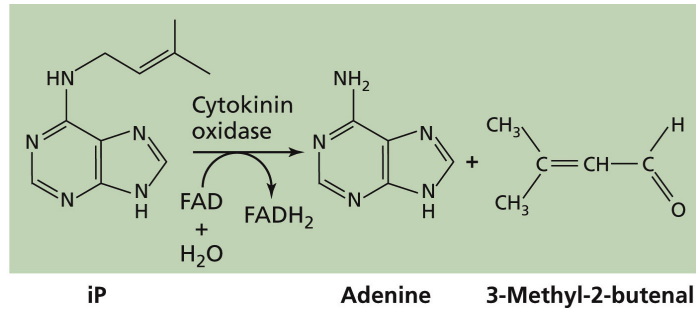
Yeast tRNA for tyrosine

IPT – Isopentenil transferase

First enzyme in biosynthetic pathway for cytokinins

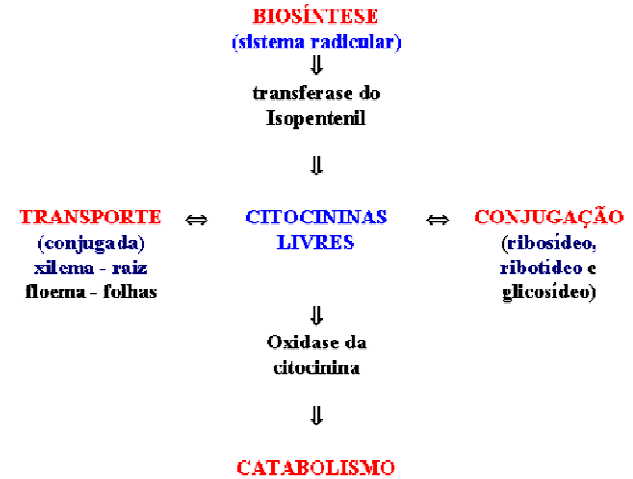
FIGURE 21.6 Biosynthetic pathway for cytokinin biosynthesis. The first committed step in cytokinin biosynthesis is the addition of the isopentenyl side chain from DMAPP to an adenosine moiety. The plant and bacterial IPT enzymes differ in the adenosine substrate used; the plant enzyme appears to utilize both ADP and ATP, and the bacterial enzyme utilizes AMP. The product of these reactions (IPA, IPMP, or IPT) are converted to zeatin by an unidentified hydroxylase. The various phosphorylated forms can be interconverted and free *trans*-zeatin can be formed from the riboside by enzymes of general purine metabolism. *trans*-zeatin can be metabolized in various ways as shown, and these reactions are catalyzed by the indicated enzymes.

Degradação oxidativa das citocininas



A oxidase da citocinina não age sobre a diidrozeatina e seus derivados nem sobre os O-glicosídeos de citocininas. Estes últimos tem funções de proteção e armazenamento e são ativos em bioensaios.

Fatores que afetam os níveis de citocininas livres



DEFINIÇÃO

As citocininas são compostos que possuem atividades semelhantes àquelas da trans-zeatina. Estas atividades incluem:

- A indução da divisão celular em *callus*, na presença de auxina;
- A indução de gemas ou de raízes em cultura de tecidos, quando aplicada em proporção adequada com auxina;
- O retardamento da senescência foliar;
- A promoção da expansão de cotilédones em dicotiledôneas.

Papel fisiológico das citocininas

- Os hormônios vegetais raramente atuam isoladamente.
- Mesmo nos casos em que a resposta se dá pela aplicação de um único hormônio, o tecido pode conter outros hormônios endógenos que contribuem para a resposta final.
- Em alguns casos a resposta está associada a dois ou mais hormônios, ou um hormônio pode induzir a síntese de outro.

Estas observações indicam que a resposta final está quase sempre associada a um BALANÇO HORMONAL.

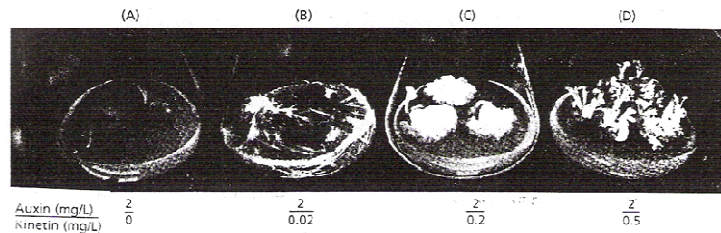
Independente desta visão, as citocininas podem estimular ou inibir uma variedade de processos fisiológicos da planta.

As plantas com superprodução de citocininas exibem várias características que indicam o papel das citocininas na fisiologia e no desenvolvimento vegetal.

- O meristema apical da parte aérea produz uma maior quantidade de folhas;
- As folhas possuem níveis mais altos de clorofila e são mais verdes;

- O enraizamento de estacas caulinares é reduzido, assim como a taxa de crescimento da raiz.
- A senescência foliar é retardada;
- A dominância apical é muito reduzida;
- As plantas com superprodução de citocininas são atrofiadas, com entrenós muito curtos;

A relação AUX/CIT regula a morfogênese em cultura de tecidos

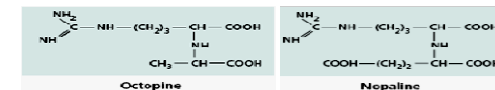
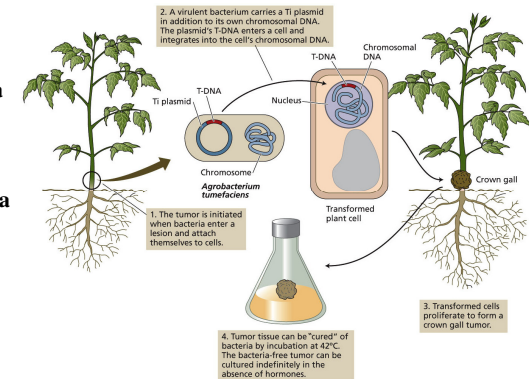


A relação auxina/citocinina regula o crescimento e a formação de órgãos em cultivo de *callus* de fumo (Taiz & Zeiger, 1998).

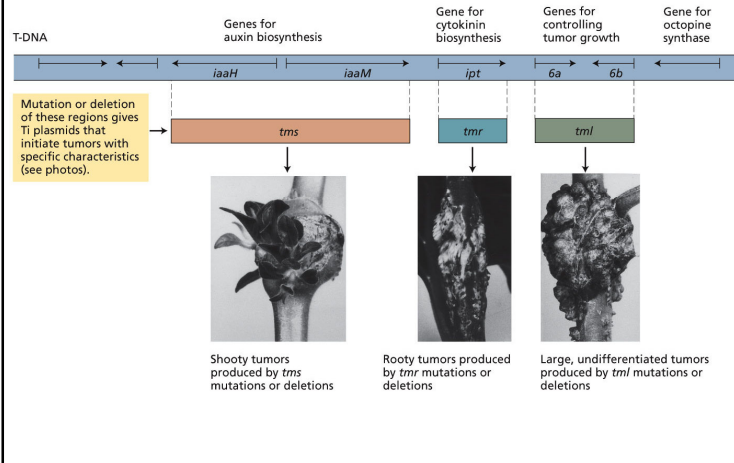
Vários pesquisadores têm usado, também, a genética molecular para investigar o significado da relação auxina/citocinina na regulação da morfogênese.

T-DNA

- 2 genes p/ auxina (mutante *tms*);
- 1 gene p/ citocinina (mutante *tmr*);
- 1 gene p/ opina (compostos nitrogenados).



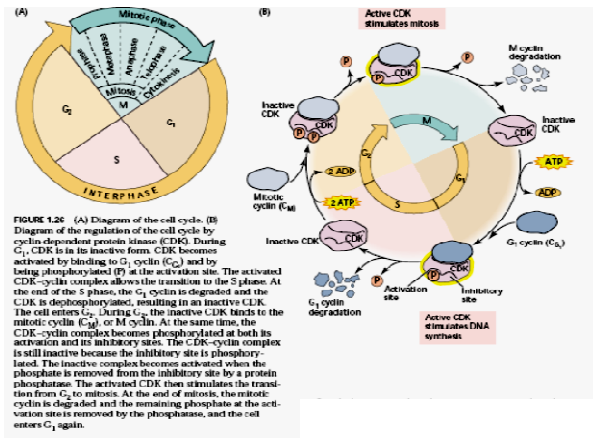
Efeito da razão auxina:citocinina na morfogênese em tumores da galha da coroa



As citocininas regulam o ciclo celular em plantas.

As citocininas foram descobertas devido à sua capacidade para estimular a divisão celular em tecidos supridos com auxinas.

Evidências experimentais sugerem que tanto a auxina como a citocinina participam na regulação do ciclo celular e elas atuam controlando a atividade de proteínas quinases que são dependentes das proteínas ciclinas.



Auxina expressa CDK (forma inativa) → CDK- C_{G_1} ou C_M
 Citocinina expressa ou ativa as ciclinas → (complexo ativo)

Quebra da dominância apical



Comparação de um mutante de *Arabidopsis* com superprodução de citocininas (B) com o tipo selvagem (A). O mutante mostra dominância apical reduzida como resultado do desenvolvimento de várias inflorescências (Taiz & Zeiger, 1998).

Retardamento da senescência de folhas

Efeito de citocininas extraídas de folhas enraizadas de *Pereskia grandifolia* no retardamento da senescência de folhas de trigo (Zaidan e Válio, 1977).

Extrato (mg mL ⁻¹)	Clorofila (665 nm)
Controle (água)	0,022
500 mg de folha	0,258
130 mg de raiz	0,220
10 µg de 6-BA	0,153

A senescência foliar é um processo de envelhecimento geneticamente programado que leva o órgão à morte.

A produção de citocininas nas raízes e seu transporte para a parte aérea são inibidos por estresses hídrico e salino e aceleram a senescência foliar.

A senescência monocárpica é acelerada pela maturação da semente.



FIGURE 21.18 Leaf senescence is retarded in a transgenic tobacco plant containing a cytokinin biosynthesis gene, *ipt*. The *ipt* gene is expressed in response to signals that induce senescence. (From Can and Amasino 1995, courtesy of R. Amasino.)

As citocininas promovem a mobilização de nutrientes em pepino (aumenta a força do dreno)

In seedling A, the left cotyledon was sprayed with water as a control. The left cotyledon of seedling B and the right cotyledon of seedling C were each sprayed with a solution containing 50 mM kinetin.

The dark stippling represents the distribution of the radioactive amino acid as revealed by autoradiography.

The results show that the cytokinin-treated cotyledon has become a nutrient sink. However, radioactivity is retained in the cotyledon to which the amino acid was applied when the labeled cotyledon is treated with kinetin (seedling C).

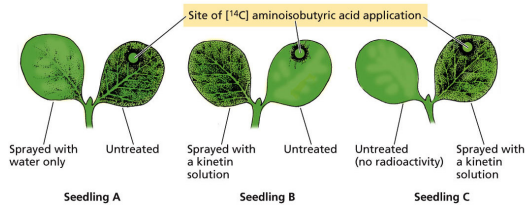
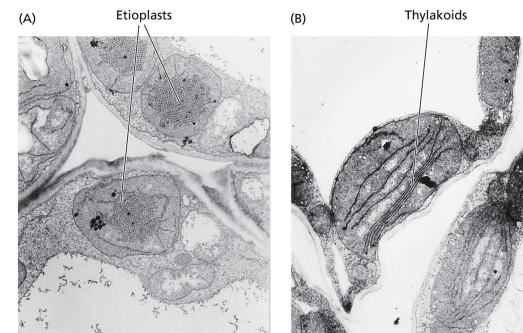


FIGURE 21.19 The effect of cytokinin on the movement of an amino acid in cucumber seedlings. A radioactively labeled amino acid that cannot be metabolized, such as aminoisobutyric acid, was applied as a discrete spot on the right cotyledon of each of these seedlings. (Drawn from data obtained by K. Mishra.)

Força do dreno = tamanho do dreno x atividade do dreno

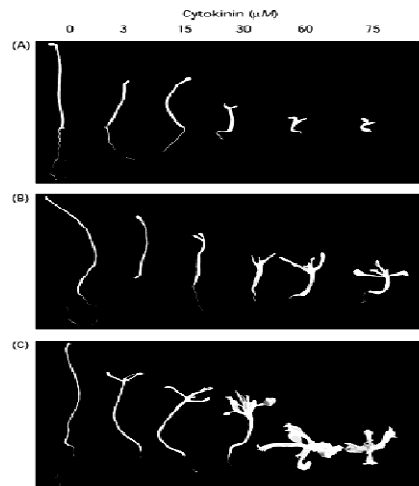
➤ **Tamanho** é a massa do dreno (g) e a **atividade do dreno** é a taxa de transferência (g h⁻¹ cm²)/massa do dreno (g).

As citocininas promovem a maturação de cloroplastos em plantas crescendo no escuro



A citocinina influencia o desenvolvimento de plântulas tipo selvagem de *Arabidopsis* que crescem no escuro. (A) Os plastídios desenvolvem-se como etioplastos na planta controle que cresce no escuro. (B) O tratamento com citocinina resultou na formação de tilacóides nos plastídios de plântulas que crescem no escuro (Chory et al. 1994).

Reversão do estiolamento de plântulas no escuro pela citocinina



Promoção da expansão celular em folhas e cotilédones folhosos

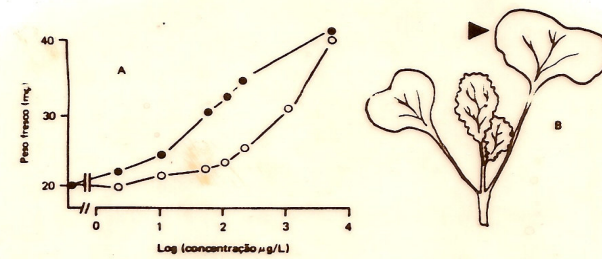
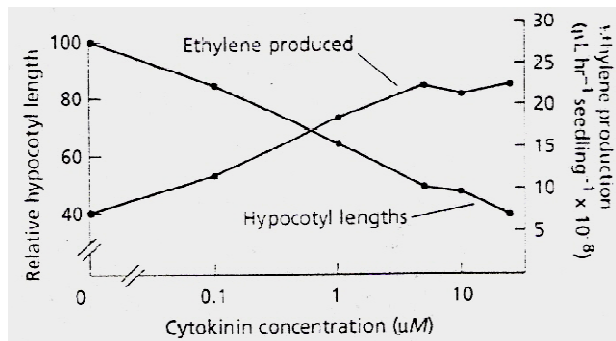


Figura 9. A) Aumento em peso fresco de cotilédones de **rabanete** após 3 dias de tratamento com cinetina (círculos cheios) e zeatina (círculos vazios). (Letham, 1968: *Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances* 19-31.)
B) Desenho esquemático de uma plantinha de rabanete. O cotilédono da direita foi pincelado com PBA (100 mg/l), o que causou considerável expansão celular. (Letham, 1969: *Bio. Science* 19:304-316.)

Inibição do alongamento celular em caules e raízes



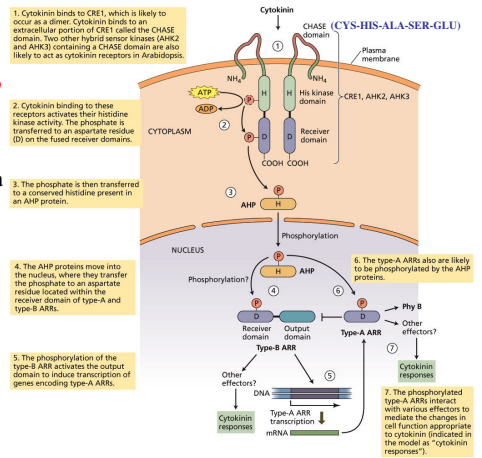
Citocininas estimulam a produção de etileno e redução no crescimento do caule em plântulas de *Arabidopsis* crescendo no escuro (Taiz & Zeiger, 1998).

Mecanismo de ação

O receptor da citocinina (CRE) está relacionado ao sistema de sinalização de dois componentes da histidina de bactérias.

Trata-se de uma proteína transmembranar relacionada com o receptor ETR1 do etileno.

A indução da fosforilação pela citocinina ativa reguladores de resposta (ARR) que podem ser fatores de transcrição.



Modelo de sinalização da citocinina. Em um futuro próximo, poderá ser vislumbrado um refinamento deste modelo, visto que atualmente estão disponíveis ferramentas para a análise das interações entre esses elementos.