

MECANISMO DE AÇÃO AUXÍNICA*

Paulo R.C. Castro**

RESUMO

As principais hipóteses envolvendo o mecanismo de ação das auxinas são consideradas com a finalidade de apontar os processos mais prováveis de acordo com os conhecimentos atuais. Ácidos nucleicos e proteínas devem estar relacionados com modificações na parede celular através da secreção de íons hidrogênio e estimulação na atividade enzimática capaz de promover afrouxamento e alongação da parede celular. Um esquema indicando os processos de ação auxínica capazes de alterações na parede celular, é apresentado.

INTRODUÇÃO

Observando-se o problema de como um fitormônio a concentrações muito baixas pode exercer um efeito fisiológico muito amplo, deve-se deduzir que qualquer mecanismo de ação envolve um efeito de grande amplificação. Pode-se esperar

* Entregue para publicação em 14.12.1979.

** Departamento de Botânica, E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP.

que estes fitormônios exerçam influência em alguns processos que alteram um grande número de outras moléculas. O mecanismo de ação das auxinas, fitormônios capazes de promover o crescimento das plantas, tem sido muito estudado, sendo que atualmente, se ainda não conhecemos a totalidade do processo, temos evidências importantes a serem consideradas.

Numerosas hipóteses têm sido estabelecidas para explicar o modo de ação das auxinas, sendo que relações com ácidos nucleicos e proteínas, modificações na parede celular, secreção de íons hidrogênio e estimulação na atividade enzimática, correspondem aos principais enfoques aventados.

RELAÇÕES COM ÁCIDOS NUCLÉICOS E PROTEÍNAS

A regulação hormonal da síntese de ácidos nucleicos e de proteínas poderia ser a primeira possibilidade para o mecanismo de ação auxínica. Aumentos na síntese de ácidos nucleicos e de proteínas têm sido verificados previamente a alterações nos teores de diversos compostos no interior das células. SILBERGER & SKOOG (1953) observaram 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). NOODEN & THIMANN (1963) consideraram 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 elongação celular é um sistema de ácidos nucleicos que controla a síntese de uma proteína essencial. ROYCHOUDHURY & SEN (1964) verificaram que a aplicação da auxina, ácido indolilacético (IAA), em *Pisum sativum*, resultou em um incremento na síntese de RNA. KEY & SHANNON (1964) notaram que a incorporação de nucleotídeos marcados no interior de ácidos nucleicos é estimulada por auxinas. Inibidores da síntese de proteínas e de ácidos nucleicos têm sido correlacionados com a interferência dos mesmos no crescimento. KEY (1964) verificou que a síntese de proteína e de RNA são essenciais para o processo de elongação 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 um enzimo 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 é uma sequência de DNA (ácido desoxiribonucléico) ligada ao gene produtor, que determina se o gene produtor 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 o RNA ativador quando o gene sensor é estimulado. Este sistema indutivo de regulação para organismos superiores seria portanto desencadeado por ação auxínica. LESHEM (1973) considera 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 determinados enzimos que modificariam processos metabólicos responsáveis pelo crescimento.

MODIFICAÇÕES NA PAREDE CELULAR

A auxina poderia promover diretamente um aumento na biossíntese de componentes da parede celular. Observou-se em *Nitella axillaris* a incorporação de tritium na superfície interna da parede celular (GREEN, 1958). Nesta alga verificou-se também que auxina pode afetar a biossíntese de proteína da parede celular (OLSON, 1964). Diversos trabalhos mostraram que tratamentos com auxina aumenta a

síntese de componentes da parede celular, incluindo celulose e hemicelulose em caule de *Pisum sativum* (CHRISTIANSEN & THIMANN, 1950), além de hemicelulose e pectinas em coleoptiles de *Avena sativa* (BAYLEY & SETTERFIELD, 1957). Foi observado grande aumento na síntese de substâncias pecticas com o tratamento por auxina (ALBERSHEIM & BONNER, 1959). Em *Avena sativa*, BAKER & RAY (1965) notaram que auxina provoca a incorporação de glucose marcada isotopicamente no interior da parede, causando alongação celular.

A estimulação do crescimento por auxina foi atribuído a um afrouxamento nas paredes celulares (HEYN, 1931). Desde que as substâncias componentes das paredes celulares envolvem pectinas e hemicelulose, foi sugerida a possibilidade de que as auxinas servem para remover os íons cálcio que promovem a ligação entre os grupamentos carboxílicos de polímeros da parede celular. Considerou-se também que auxina poderia promover um aumento de radicais metil nas substâncias pecticas das paredes celulares do tecido em alongação (BENNET-CLARK, 1955). Verificou-se que a etionina, capaz de inibir metilações, interfere fortemente no crescimento do coleoptile de *Avena sativa* (SCHRANK, 1956). A metilação dos grupamentos carboxílicos das moléculas de pectina adjacentes, sob o efeito de auxina, poderia promover a remoção das pontes de cálcio que contribuem para as propriedades mecânicas da parede celular. Verificou-se que o aumento na incorporação de glucose marcada na pectina da parede, causado por auxina, é devido principalmente à adição através de grupamentos éster metílicos (ORDIN *et alii*, 1957). De acordo com esta hipótese, o cálcio dificultaria a extensibilidade da parede celular formando pontes com grupamentos carboxílicos no ácido galacturônico, o principal componente da pectina. A auxina promoveria estímulo na metilação do ácido galacturônico, ocorrendo substituição do cálcio pelo grupamento metil. Porém, a ocorrência restrita de auxina induzindo a metilação de pectina em tecidos vegetais, torna pouco provável que este processo desempenhe importante função no crescimento celular (CLELAND, 1963).

SECREÇÃO DE ÍONS HIDROGÊNIO

Numerosas evidências experimentais têm demonstrado que a secreção de íons hidrogênio exerce uma ação importante na alongação rápida da parede celular. RAYLE & CLELAND (1970) verificaram 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. EVANS *et alii* (1971) também obtiveram rápido crescimento colocando coleoptiles em soluções saturadas com dióxido de carbono. Sugeriram que as rápidas respostas a 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. CLELAND *et alii* (1977) consideraram a possibilidade da auxina ativar a extrusão eletrogênica de hidrogênio, sendo que MENTZE *et alii* (1977) observaram a habilidade de segmentos do hipocótilo de *Helianthus annuus* em secretarem hidrogênio como resposta a auxina. PARRISH & DAVIES (1977) também verificaram em segmentos do caule de *Pisum sativum*, evidência de que pode ocorrer acidificação em resposta ao tratamento com auxina. TEPFER & CLELAND (1979) notaram que a extensibilidade das paredes celulares de *Valonia ventricosa* e de *Avena sativa* são similares em resposta à acidificação. Verificaram 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, enquanto 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 baixo pode estimular a alongação celular alterando as associações dos polissacarídeos no interior da parede. Notaram 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.

ESTIMULAÇÃO NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Algumas evidências experimentais têm sugerido que as auxinas poderiam estimular a atividade de enzimas degradadores que poderiam levar à alongação da parede celular. Hidrolases que atuam sobre polissacarídeos, como β -1,3-glucânase e celulase, ocorrem nas paredes celulares; sendo que auxina poderia causar um aumento na atividade desses enzimos. FAN & MACLACHLAN (1966) verificaram uma alta correlação entre a estimulação do crescimento por auxina e o aumento em celulase no caule de *Pisum sativum*. A extensibilidade da parede celular poderia ser aumentada por celulase e β -1,3-glucânase. Todavia, esses enzimos não têm mostrado ação em diversas espécies vegetais estudadas, o que dificulta a aceitação dos mesmos como responsáveis pelo crescimento celular (CLELAND, 1971). JOHNSON *et alii* (1974) sugeriram a possibilidade de que auxina promoveria o crescimento estimulando a secreção de íons hidrogênio que por sua vez ativariam glucosídases (principalmente β -galactosídase) da parede celular do coleoptile de *Avena sativa*, causando afrouxamento da parede. Porém, EVANS (1974), através da utilização de inibidores, demonstrou que β -galactosídase e β -glucosídase não exercem uma ação decisiva no crescimento promovido por auxina ou acidificação.

Numerosos trabalhos têm demonstrado que as auxinas poderiam estimular a atividade de enzimas sintetizadores,

capazes de promover a alongação da parede celular. ALBERSHEIM (1976) considerou que auxina poderia estimular o β -glucan sintetase, o qual possui a capacidade de romper e refazer ligações glucosídicas entre duas fibras de celulose. Isto poderia ocorrer pela ação de auxina que ativaria uma bomba iônica na membrana plasmática que resultaria num abaixamento do pH na parede que seria afrouxada mais eficientemente pela β -glucan sintetase. Todavia não se obtiveram ainda evidências experimentais consistentes para comprovar esta hipótese. RAY (1973) observou que auxina causou um aumento de duas a quatro vezes na atividade de β -glucan sintetase em segmentos do caule de *Pisum sativum*, sendo que este β -glucan sintetase parece ter alta afinidade por glucose uridina difosfato. DAUWALDER & WHALEY (1974) consideraram 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. GAWLIK & SHEN-MILLER (1974) notaram 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. SHORE & MACLACHLAN (1975) verificaram que preparações de paredes das regiões de crescimento do epicótilo de *P. sativum* possuem atividade de β -1,4-glucan (celulose) sintetase, sendo que os níveis desse β -glucan sintetase são afetados por tratamento com a auxina ácido indolilacético (IAA). 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 β -glucan sintetase para os locais de ação na interface entre o protoplasma e a parede celular. HEINIGER & DELMER (1977) observaram em fibras de *Gossypium hirsutum* em desenvolvimento, que o produto obtido da ação de β -glucan sintetase sobre glucose uridina difosfato é um β -1,3-glucan. RAYMOND *et alii* (1978) notaram a síntese de β -glucan sintetase a partir de glucose uridina difosfato, em fragmentos do tecido de *P. sativum*. MALTBY *et alii* (1979) verificaram evidências da presença de β -1,3-glucan em fibras de *G. hirsutum*. O tempo de deposição de β -1,3-glucan durante o desenvolvimento da fibra coincide com a síntese de celulose na parede secundária. Consideraram que estes dois diferentes glucans não

são polimerizados diretamente de uma mesma reserva de substrato. LABAVITCH & RAY (1974) observaram que auxina promove a liberação de xiloglucam (hemicelulose) da parede celular de segmentos do caule de *P. sativum* em elongação. 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. POPE (1977) demonstrou que uma proteína rica em hidroxiprolina é exportada do protoplasma para a parede celular em *Acer pseudoplatanus*.

OBSERVAÇÕES FINAIS

Apesar de todos os processos responsáveis pela elongação celular por ação auxínica, não terem sido ainda esclarecidos, alguns deles podem ser apontados a partir das evidências experimentais descritas. Deste modo, a síntese de ácidos nucleicos e de proteínas, sob efeito de auxinas, mostra-se importante para o mecanismo de expansão da parede celular. Uma reserva de glucose e xilose, além de outros carboidratos, deve estar presente no sistema que dará origem ao material necessário para o processo de elongação. Um desses enzimas poderia ter a propriedade de romper e refazer, após um deslize, ligações glucosídicas entre polissacarídeos da parede celular, causando afrouxamento da parede e elongação celular (Figura 1). Outro enzima seria o β -glucam sintetase que se formaria no Aparato de Golgi por ação da auxina, assim como xiloglucam, sendo que ambos os produtos seriam transportados para a parede celular através das vesículas de Golgi, formadas nas regiões mais maduras do Aparato de Golgi. Xiloglucam, seria incorporada na parede celular por ação da β -glucam sintetase, sob efeito de auxina (Figura 1). A presença de β -glucam sintetase também foi verificada no Retículo Endoplasmático, de onde seria transportada para a parede celular, podendo promover a incorporação de celulose originária do protoplasma (Figura 1).

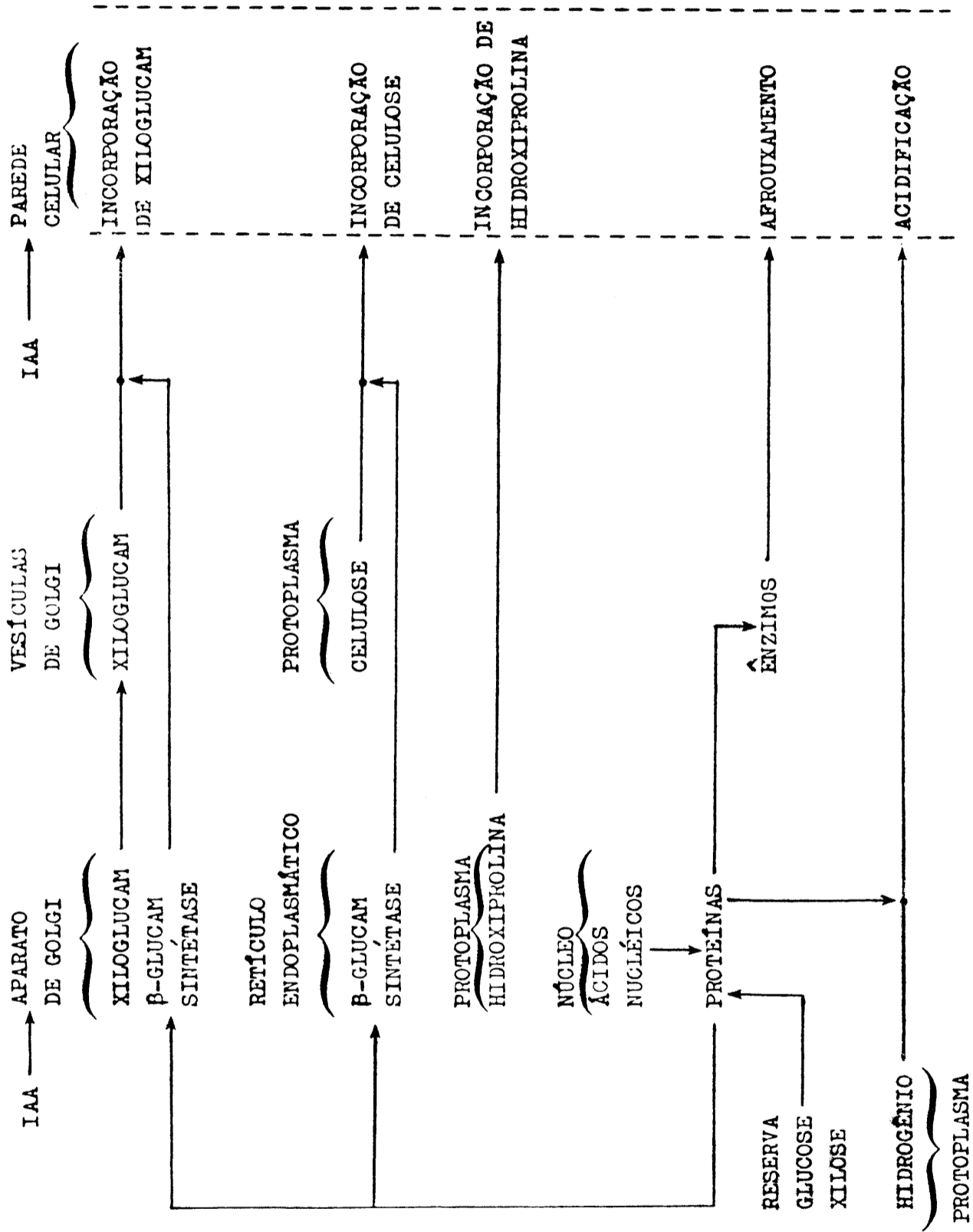


Figura 1 - Representação do mecanismo de ação auxínica (IAA) promotora de crescimento ao nível celular.

A incorporação de hidroxiprolina proveniente de protoplasma na parede celular foi também observada (Figura 1). Uma bomba de prótons poderia promover a secreção de íons hidrogênio em um compartimento da parede celular causando acidificação responsável pelo crescimento rápido (Figura 1). Sistemas de retroefeito devem ocorrer entre a formação de substâncias no Aparato de Golgi e os ácidos nucleicos além de entre xiloglucam na parede celular e os ácidos nucleicos.

SUMMARY

MECHANISM OF AUXIN ACTION

Present evidence suggests the following picture for cell wall extension: there is the possibility that auxin acts to induce synthesis of nucleic acids and proteins which presumably are involved in cell enlargement through enzyme activation and cell wall components synthesis. Rapid responses to auxin may be through the auxin activation of a proton pump on the plasmalemma. The resultant lowering of the pH in the wall enhances the activity of wall-loosening enzymes there promoting cell wall enlargement. A schematic representation of the mechanism concerning the action of auxin in elongation growth is presented.

LITERATURA CITADA

- ALBERSHEIM, P., 1976. The primary cell wall. In: Plant Biochemistry. J. Bonner and J.E. Varner eds. Academic Press, New York, pp. 225-274.
- ALBERSHEIM, P.; BONNER, J., 1959. Metabolism and hormonal control of pectic substances. J. Biol. Chem. 234:3105-3108.
- BAKER, D.B.; RAY, P.M., 1965. Relation between effects of auxin on cell wall synthesis and cell elongation. Plant Physiol. 40:360-368.

- BATES, G.W.; RAY, P.M., 1979. pH dependent release of polymers from isolated cell walls. *Plant Physiol.* (supplement) 63:21.
- BENNET-CLARK, T.A., 1955. A hypothesis on salt accumulation and the mode of action of auxin. In: *The chemistry and mode of action of plant growth substances*. R.L. Wain & F. Wightman eds. Butterworth Scientific Publ., London, pp. 284-294.
- BRITTEN, R.J.; DAVIDSON, E.H., 1969. Gene regulation for higher cells: a theory. *Science* 165:349-357.
- CHRISTIANSEN, G.S.; THIMANN, K.V., 1950. Metabolism of stem tissue during growth and its inhibition. II: Respiration and other soluble material. *Arch. Biochem.* 26:248-259.
- CLELAND, R., 1963. The occurrence of auxin-induced pectin methylation in plant tissues. *Plant Physiol.* 38:738-740.
- CLELAND, R., 1971. Cell wall extension. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22:197-222.
- CLELAND, R.E.; PRINS, H.B.A.; HARDER, J.R.; HIGINBOTHAM, N., 1977. Rapid hormone-induced hyperpolarization of the oat coleoptile transmembrane potential. *Plant Physiol.* 59:395-397.
- DAUWALDER, M.; WHALEY, W.G., 1974. Patterns of incorporation of (³H) galactose by cells of *Zea mays* root tips. *J. Cell Sci.* 14:11-27.
- EVANS, M.L., 1974. Evidence against the involvement of galactosidase or glucosidase in auxin or acid-stimulated growth. *Plant Physiol.* 54:213-215.
- EVANS, M.L.; RAY, P.M., 1969. Timing of auxin response in coleoptiles and its implications regarding auxin action. *J. Gen. Physiol.* 53:1-20.

- EVANS, M.L.; RAY, P.M.; REINHOLD, L., 1971. Induction of coleoptile elongation by carbon dioxide. *Plant Physiol.* 47:335-341.
- FAN, D.F.; MACLACHLAN, G.A., 1966. Control of cellulase activity by indoleacetic acid. *Can. J. Bot.* 44:1025-1034.
- GAWLIK, S.R.; SHEN-MILLER, J., 1974. Effects of indoleacetic acid on dictyosomes of apical and expanding cells of oat coleoptiles. *Plant Physiol.* 54:217-221.
- GREEN, P.B., 1958. Concerning the site of the addition of new wall substances to the elongating *Nitella* cell wall. *Amer. J. Bot.* 45:111-116.
- HAGER, A.; MENZEL, H.; KRAUSS, A., 1971. Versuche und Hypothese zur Primarwirkung des Auxins beim Streckungswachstum. *Planta* 100:47-75.
- HEINIGER, U.; DELMER, D.P., 1977. UDP-glucose: glucan synthetase in developing cotton fibers. *Plant Physiol.* 59:719-723.
- HEYN, A.N.J., 1931. Der Mechanismus der Zellstreckung. *Recl. Trav. Bot. Neerl.* 28:113-244.
- JOHNSON, K.D.; DANIELS, D.; DOWLER, M.J.; RAYLE, D.L., 1974. Activation of *Avena* coleoptile cell wall glycosidases by hydrogen ions and auxin. *Plant Physiol.* 53:224-228.
- KEY, J.L., 1964. Ribonucleic acid and protein synthesis as essential processes for cell elongation. *Plant Physiol.* 39:365-370.
- KEY, J.L.; SHANNON, J.C., 1964. Enhancement by auxin of ribonucleic acid synthesis in excised soybean hypocotyl tissue. *Plant Physiol.* 39:360-364.
- LABAVITCH, J.M.; RAY, P.M., 1974. Relationship between promotion of elongation by indoleacetic acid. *Plant Physiol.* 54:499-502.

- LESHEM, Y., 1973. The molecular and hormonal basis of plant growth regulation. Pergamon Press, New York, pp.93-147.
- MALTBY, D.; CARPITA, N.C.; MONTEZINOS, D.; KULOW, K.; DELMER, D.P., 1979. β -1,3-glucan in developing cotton fibers. *Plant Physiol.* 63:1158-1164.
- MENTZE, J.; RAYMOND, B.; COHEN, J.D.; RAYLE, D.L., 1977. Auxin-induced H⁺ secretion in *Helianthus* and its implications. *Plant Physiol.* 60:509-512.
- NOODÉN, L.D.; THIMANN, K.V., 1963. Evidence for a requirement for protein synthesis for auxin-induced cell enlargement. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 50:194-200.
- OLSON, A.C., 1964. Proteins and plant cell walls: Proline to hydroxyproline in tobacco suspension cultures. *Plant Physiol.* 39:543-550.
- ORDIN, L.; CLELAND, R.; BONNER, J., 1957. Methyl esterification of cell wall constituents under the influence of auxin. *Plant Physiol.* 32:216-220.
- PARRISH, D.J.; DAVIES, P.J., 1977. On the relationship between extracellular pH and the growth of excised pea stem segments. *Plant Physiol.* 59:574-578.
- POPE, D.G., 1977. Relationship between hydroxyproline-containing proteins secreted into the cell wall and medium by suspension-cultured *Acer pseudoplatanus* cells. *Plant Physiol.* 59:894-900.
- RAY, P.M., 1973. Regulation of β -glucan synthetase activity by auxin in pea stem tissue. *Plant Physiol.* 51:601-608.
- RAYLE, D.L.; CLELAND, R., 1970. Enhancement of wall loosening and elongation by acid solutions. *Plant Physiol.* 46:250-253.

- RAYMOND, Y.; FINCHER, G.B.; MACLACHLAN, G.A., 1978. Tissue slice and particulate β -glucan synthetase activities from *Pisum* epicotyls. *Plant Physiol.* 61:938-942.
- ROYCHOUDHURY, R.; SEN, S.P., 1964. Studies on the mechanism of auxin action. *Physiol. Plant.* 17:352-362.
- SCHRANK, A.R., 1956. Ethionine inhibition of elongation and geotropic curvature of *Avena* coleoptiles. *Arch. Biochem. Biophys.* 61:348-355.
- SHORE, G.; MACLACHLAN, G.A., 1975. Hormone treatment alters the intracellular location of alkali-insoluble β -1,4-glucan (cellulose) synthetase activities. *J. Cell Biol.* 64:557-571.
- SILBERGER, J.; SKOOG, F., 1953. Changes induced by indoleacetic acid in nucleic acid contents of tobacco pith tissue. *Science* 118:443-444.
- TEPFER, M.; CLELAND, R.E., 1979. A comparison of acid-induced cell wall loosening in *Valonia ventricosa* and in oat coleoptiles. *Plant Physiol.* 63:898-902.