

UNIDADE IV
NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS

NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS

1 –INTRODUÇÃO

As plantas são organismos autotróficos que vivem entre dois ambientes inteiramente inorgânico, retirando CO₂ da atmosfera e água e nutrientes minerais do solo. Os nutrientes minerais são adquiridos primariamente na forma de íons inorgânicos e entram na biosfera predominantemente através do sistema radicular da planta. A grande área superficial das raízes e sua grande capacidade para absorver íons inorgânicos em baixas concentrações na solução do solo, tornam a absorção mineral pela planta um processo bastante efetivo. Além disso, outros organismos, como os fungos (micorrízicos) e as bactérias fixadoras de nitrogênio, freqüentemente contribuem para a aquisição de nutrientes pelas plantas. Depois de absorvido, os íons são transportados para as diversas partes da planta, onde são assimilados e utilizados em importantes funções biológicas.

O estudo de como as plantas absorvem, transportam, assimilam e utilizam os íons é conhecido como NUTRIÇÃO MINERAL. Esta área do conhecimento busca o entendimento das relações iônicas sob condições naturais de solo (salinidade, acidez, alcalinidade, presença de elementos tóxicos, como Al³⁺ e metais pesados, etc), porém, o seu maior interesse está ligado diretamente à agricultura e à produtividade das culturas. Alta produção agrícola depende fortemente da fertilização com elementos minerais. No entanto, as plantas cultivadas, tipicamente, utilizam menos da metade dos fertilizantes aplicados. O restante pode ser lixiviado para os lençóis subterrâneos de água, tornar-se fixado ao solo ou contribuir para a poluição do ar. Assim, torna-se de grande importância aumentar a eficiência de absorção e de utilização de nutrientes, reduzindo os custos de produção e contribuindo para evitar prejuízos ao meio ambiente.

2 – ELEMENTOS ESSENCIAIS

a) Definição e Classificação

Utilizando-se a definição inicial de Arnon & Stout (1939), o elemento é considerado essencial quando atende aos três critérios seguintes:

- O Elemento deve estar diretamente envolvido no metabolismo da planta (como constituinte de molécula, participar de uma reação, etc.);
- A planta não é capaz de completar o seu ciclo de vida na ausência do elemento;
- A função do elemento é específica, ou seja, nenhum outro elemento poderá substituí-lo naquela função;

Utilizando-se estes critérios, os especialistas da área de nutrição mineral consideram os elementos como essenciais para as plantas. Estes elementos minerais essenciais são usualmente classificados como macro ou micronutrientes, de acordo com a sua concentração relativa no tecido ou de acordo com a concentração requerida para o crescimento adequado da planta. Em geral, as concentrações dos macronutrientes (N, P, K, Si, Ca, Mg e S) são maiores do que as dos micronutrientes (Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, B, Cl, Ni e Na). Vale salientar, no

entanto, que a concentração de determinado nutriente pode estar acima ou abaixo daquela requerida para o crescimento normal da planta. Assim, é melhor classificar macro e micronutrientes de acordo com o requerimento dos nutrientes para o crescimento adequado da planta (Tabela 1)

Tabela 1 – Os elementos essenciais para as plantas superiores e suas concentrações consideradas adequadas para o crescimento normal da planta (Hopkins, 2000)

Elemento	Símbolo Químico	Forma Disponível	Concentração na matéria seca (mmol/kg)
Macronutrientes			
Hidrogênio	H	H ₂ O	60.000
Carbono	C	CO ₂	40.000
Oxigênio	O	O ₂ , CO ₂	30.000
Nitrogênio	N	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	1000
Potássio	K	K ⁺	250
Cálcio	Ca	Ca ²⁺	125
Magnésio	Mg	Mg ²⁺	80
Fósforo	P	H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻	60
Enxofre	S	SO ₄ ²⁻	30
Silício	Si	SiO ₂	30
Micronutrientes			
Cloro	Cl	Cl ⁻	3,0
Boro	B	BO ₃ ³⁻	2,0
Ferro	Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	2,0
Manganês	Mn	Mn ²⁺	1,0
Sódio	Na	Na ⁺	0,4
Zinco	Zn	Zn ²⁺	0,3
Cobre	Cu	Cu ⁺ , Cu ²⁺	0,1
Níquel	Ni	Ni ²⁺	0,05
Molibdênio	Mo	MoO ₄ ²⁻	0,001

É importante destacar, também, que a distinção entre macro e micronutrientes é quantitativa, não significando diferentes níveis de importância para a nutrição da planta. Por exemplo, de acordo com a tabela 1, para cada átomo de molibdênio (micro) a planta requer um milhão de átomos de nitrogênio (macro). Porém, se o nitrogênio for suprido na forma de nitrato (NO₃⁻), na ausência de MOLIBDÊNIO, o nitrogênio não será assimilado, visto que o molibdênio é essencial para a redução de NO₃⁻ para amônio (NH₄⁺). Assim, não haverá síntese de aminoácidos e de proteínas e a planta não crescerá adequadamente.

Os elementos químicos, hidrogênio, oxigênio e carbono atendem aos três critérios mencionados anteriormente. Na realidade, estes três elementos são os principais constituintes do material vegetal (Tabela 1). No entanto, eles são obtidos primariamente da água (H₂O) e do ar (O₂ e CO₂), não sendo considerados elementos minerais e não são estudados pela nutrição mineral.

Outros elementos que compensam efeitos tóxicos de outro ou que simplesmente substituem o elemento essencial em alguma função das menos específicas, como a manutenção da pressão osmótica, não são essenciais. Os elementos minerais que estimulam o crescimento, porém, não são essenciais (não atendem a todos os critérios de essencialidade)

ou os que são essenciais somente para certas espécies ou sob condições específicas, são denominados de BENÉFICOS. Entre eles pode-se citar o **cobalto**, **o sódio**, **o silício**, **o selênio** e **o alumínio**.

b) Técnicas Especiais Utilizadas no Estudo da Nutrição Mineral

Para demonstrar a essencialidade de um elemento, é requerida a ausência somente do elemento em estudo no meio nutritivo. Tal condição é extremamente difícil de ser obtida em meios complexos como o solo. No século XIX, alguns pesquisadores (incluindo de Saussure, Sachs, Boussingault e Knop) mostraram que as plantas poderiam crescer normalmente em solução nutritiva (meio líquido contendo somente sais inorgânicos). Esta técnica é hoje conhecida como **HIDROPONIA** e tem se prestado a inúmeros estudos relativos à Nutrição Mineral (Figura 1)

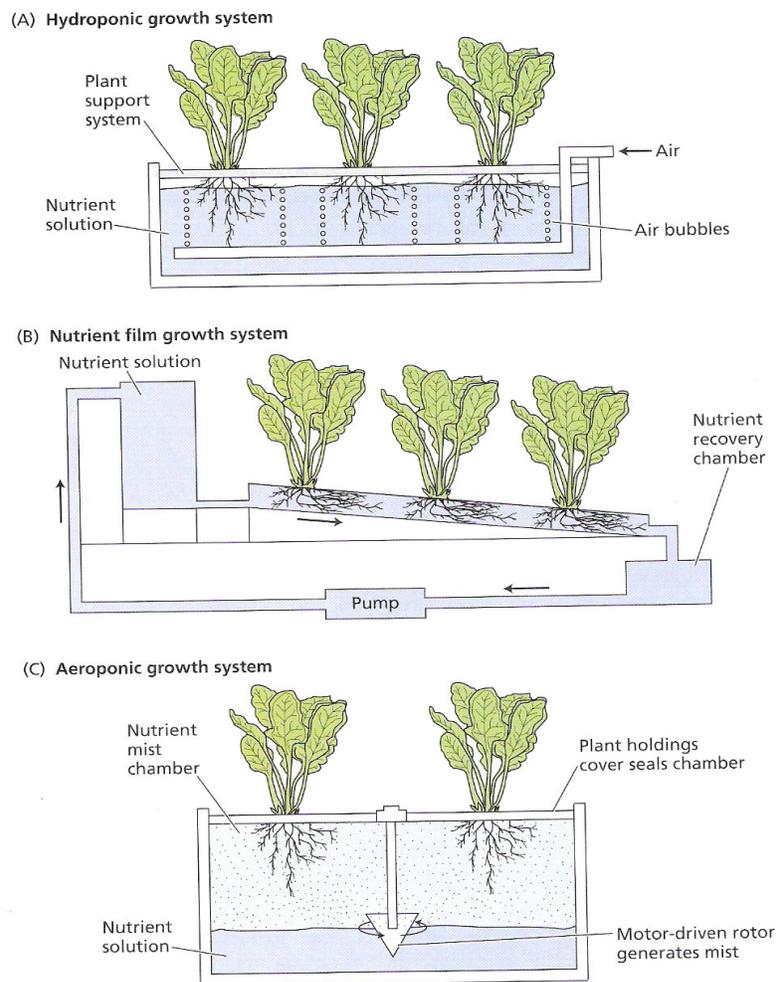


Figura 1 – Sistemas de cultivo hidropônico (Taiz & Zeiger, 1998)

O cultivo hidropônico requer alguns cuidados especiais. Há necessidade de grandes volumes de solução e do ajuste freqüente das concentrações dos nutrientes e do pH do meio (o pH influencia na disponibilidade dos nutrientes). Um suprimento de O_2 (ar comprimido) é necessário para permitir a respiração das raízes. Em muitos cultivos hidropônicos comerciais,

no entanto, as raízes das plantas são colocadas em valas (canos de PVC cortados ao meio) e a solução nutritiva flui em uma fina camada ao longo da vala, alimentando as raízes. Este sistema garante um amplo suprimento de oxigênio às plantas.

A solução nutritiva deve fornecer os elementos essenciais em concentrações que permitam o rápido crescimento da planta, devendo-se ter o cuidado para que os mesmos não atinjam níveis tóxicos. Soluções com altos níveis de nutrientes permitem que a planta cresça por maior período de tempo sem a necessidade de troca da solução. A solução de Hoagland (original), por exemplo, tem uma concentração de fósforo que pode ser até 1.300 vezes maior do que a concentração observada na solução do solo. Estas soluções concentradas têm sido preteridas na maioria das pesquisas modernas, as quais utilizam soluções bem diluídas e que são trocadas freqüentemente para diminuir as flutuações nas concentrações de nutriente (Tabela 2). O acompanhamento da concentração de K^+ tem sido utilizado para indicar o momento em que a solução deve ser trocada. Uma queda de 40 a 50% na concentração de K^+ pode indicar a necessidade de troca.

Tabela 2 – Concentrações de nutrientes em duas soluções nutritivas e na solução de um solo

Elemento	Solução de Hoagland (Epstein, 1972)	Solução de Clark (Clark, 1975)	Solução de um solo (Marschner, 1995)
Macronutriente (mM)			
Nitrogênio	16,0	8,0	3,200
Fósforo	2,0	0,14	0,0015
Enxofre	1,0	0,6	0,590
Potássio	6,0	1,87	0,510
Cálcio	4,0	2,6	1,700
Magnésio	1,0	0,6	0,490
Micronutrientes (μ M)			
Ferro	35,0	45	-
Cobre	0,5	0,5	-
Zinco	2,0	2,0	0,480
Manganês	2,0	7,0	0,002
Molibdênio	0,5	0,6	-
Boro	25	19	-
Cloro	50,0	950	-
Níquel	0,5	-	-

Um outro ponto importante no cultivo hidropônico é a forma em que o nitrogênio (N) deve ser aplicado. A utilização de uma única forma de N, nítrica ou amoniacal, não é recomendada, pois pode causar um rápido aumento ou queda no pH, respectivamente. Isto ocorre por que a absorção de NO_3^- provoca o influxo de H^+ (entrada de H^+ na célula e aumento do pH do meio) e a absorção de NH_4^+ provoca o efluxo de H^+ (saída de H^+ da célula e queda do pH do meio). Uma relação 7/1 (nitrato/amônio) é utilizada em muitos estudos.

Um outro problema do cultivo hidropônico é a manutenção da disponibilidade de ferro (Fe). Quando suprido na forma de sal [$FeSO_4$ ou $Fe(NO_3)_2$], o Fe pode ser precipitado como hidróxido ou fosfato de ferro. O uso de agentes quelantes, como ácido cítrico, ácido tartárico e, mais recentemente, EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) ou DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético) tem sido a saída encontrada pelos estudiosos. Estes compostos

formam complexos solúveis com cátions, como Fe^{2+} e Ca^{2+} . O Fe^{2+} parece ser liberado do complexo na superfície da raiz, onde ele é absorvido.

c) Relação Sintoma x Função

O relacionamento entre o crescimento ou a produtividade das plantas e a concentração dos nutrientes no tecido evidencia a ocorrência de três zonas distintas (Figura 2).

- Zona de deficiência – ocorre quando o teor do nutriente no tecido é baixo e o crescimento é reduzido. Nesta zona, adição de fertilizante produz incrementos na produtividade.
- Zona Adequada – Nesta região, aumento no teor do nutriente não implica em aumento do crescimento ou da produtividade.
- Zona de toxicidade – o nutriente acumulou em excesso, produzindo toxicidade.

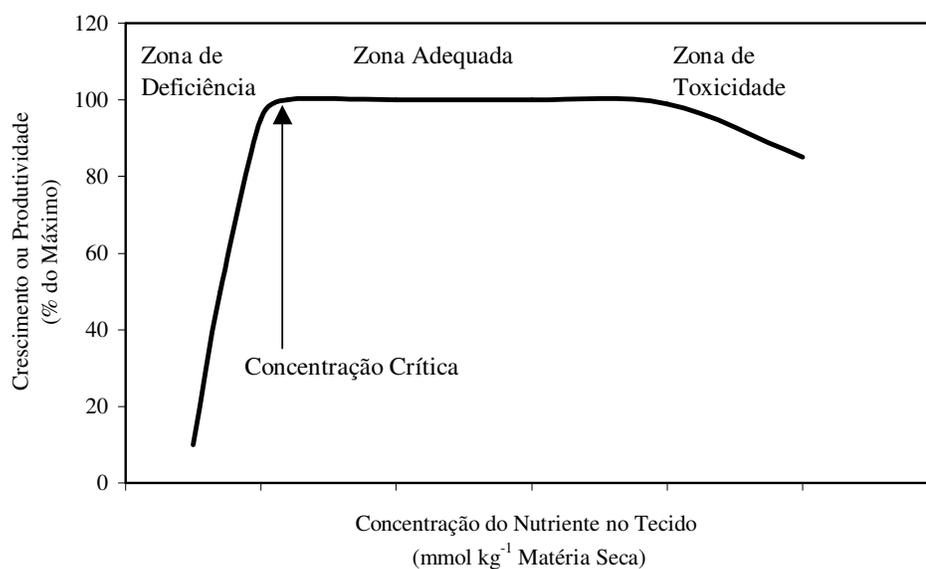


Figura 2 – Relacionamento entre o crescimento (ou produtividade) e o teor de nutrientes no tecido vegetal (Taiz & Zeiger, 1998)

OBS: A concentração crítica para um determinado nutriente corresponde à concentração abaixo da qual o crescimento (ou produtividade) é reduzido.

O suprimento inadequado de um elemento essencial (excesso ou deficiência) resulta em uma desordem nutricional manifestada por características definidas como SINTOMAS. Os sintomas de deficiência de nutrientes em uma planta correspondem à expressão da desordem metabólica resultante do suprimento insuficiente de um elemento essencial. Estas desordens estão relacionadas com os papéis executados pelo elemento no funcionamento normal da planta. Por exemplo, a deficiência de nitrogênio produz inicialmente clorose nas folhas que se deve ao fato do N fazer parte da molécula de clorofila e de todas as proteínas (inclusive as enzimas).

Em cultivo hidropônico, a ausência de um elemento essencial pode ser prontamente correlacionada com um dado sintoma. A diagnose de plantas crescendo no solo pode ser mais

complexa, por que mais de um elemento pode estar em níveis inadequados ao mesmo tempo, o excesso de um elemento pode induzir deficiência de outros (competição) e alguns vírus de plantas produzem sintomas similares àqueles de deficiências nutricionais. Além disso, é importante destacar que o sintoma é a expressão final da desordem metabólica, ou seja, antes do aparecimento do sintoma o metabolismo vegetal e o crescimento da planta já podem estar comprometidos. Para contornar estes problemas deve-se proceder, periodicamente, a análise de solo e, em muitos casos, a análise da planta (análise foliar).

Quando se faz a relação entre os sintomas de deficiência com o papel do elemento essencial, é importante considerar a extensão na qual um elemento pode ser reciclado das folhas velhas para as novas (Tabela 3). Alguns elementos como N (na forma orgânica), P, Mg e K podem mover-se facilmente de uma folha para outra. Outros como Ca, B e Fe são relativamente imóveis na maioria das plantas. Assim, deficiência de um elemento móvel poderá tornar-se evidente primeiramente nas folhas velhas. Enquanto que a deficiência de elementos imóveis aparece primeira nas folhas novas da planta.

Tabela 3 – Elementos minerais classificados com base na sua mobilidade dentro da planta (Taiz & Zeiger, 1998)

Elementos Móveis	Elementos Imóveis
Nitrogênio	Cálcio
Potássio	Enxofre
Magnésio	Ferro
Fósforo	Boro
Cloro	Cobre
Zinco	
Molibdênio	
Sódio	

d) Elementos Essenciais: principais funções e sintomas de deficiência

- **Nitrogênio** - É o elemento essencial requerido em maior quantidade pelas plantas. É constituinte de muitos compostos da planta, incluindo todas as proteínas (formadas de aminoácidos) e ácidos nucleicos. Assim, deficiência de N inibe rapidamente o crescimento da planta. Se a deficiência persiste, a maioria das plantas mostra clorose, especialmente nas folhas velhas. A intensificação da deficiência pode levar à queda da folha. Pode ocorrer, também, acúmulo de carboidratos ou os carboidratos não utilizados no metabolismo do N podem ser usados na síntese de antocianina, levando ao acúmulo deste pigmento nos vacúolos (produz coloração púrpura).
- **Fósforo** – O fósforo (P), como fosfato (HPO_4^{2-}) é um componente integral de importantes compostos da planta, incluindo açúcares-fosfato (glicose 6P, Frutose 6P, etc), fosfolipídios de membranas, nucleotídeos usados como fonte de energia (ATP) e nos ácidos nucleicos. Um sintoma característico de deficiência de P é a coloração verde-escura de folhas mais velhas (primeiramente) associadas ao aparecimento da cor púrpura, devido ao acúmulo de antocianina.
- **Enxofre** – O enxofre (S) é constituinte de compostos de planta (acetil-CoA, Glutathione, etc) e, como o N, é constituinte das proteínas (o S é encontrado nos

aminoácidos cisteína e metionina). Assim, muitos dos sintomas são semelhantes aos apresentados pela deficiência de N, incluindo clorose, redução no crescimento e acúmulo de antocianina. A clorose, no entanto, aparece primeiro nas folhas mais jovens, o que é consequência da baixa mobilidade do S na planta. Todavia, em algumas plantas a clorose ocorre ao mesmo tempo em todas as folhas ou pode até iniciar nas folhas mais velhas.

- **Potássio** – O potássio está presente na planta como cátion monovalente (K^+) e executa importante papel na regulação do potencial osmótico de células de plantas. É também requerido para a ativação de muitas enzimas da respiração e da fotossíntese. O primeiro sintoma de deficiência de K é a clorose marginal, a qual se desenvolve como necrose a partir do ápice, inicialmente nas folhas maduras (velhas).
- **Cálcio** – Os íons Ca^{2+} são usados na síntese de novas paredes celulares, particularmente na formação da lamela média que separa novas células após a divisão. O cálcio é também requerido para o funcionamento normal da membrana plasmática e tem sido implicado como mensageiro secundário (Ca^{2+} - citosólico ou Ca^{2+} ligado à proteína calmodulina) para várias respostas de planta relacionadas com o ambiente e sinais hormonais. Sintomas característicos de deficiência de Ca^{2+} incluem necrose de regiões meristemáticas (como ápices de raízes e da parte aérea), onde a divisão celular e a formação de parede são intensas. Esses sintomas também revelam a baixa mobilidade do Ca^{2+} na planta.
- **Magnésio** – Nas células de plantas, Mg^{2+} tem papéis específicos na ativação de enzimas da respiração, da fotossíntese e da síntese de ácidos nucléicos. O Mg^{2+} é também parte da estrutura da molécula de clorofila (pigmento associado à fotossíntese). Um sintoma característico de deficiência de Mg^{2+} é a clorose internervural que ocorre primeiro nas folhas velhas. Esta clorose internervural resulta do fato de que a clorofila próxima aos feixes vasculares (nervuras) permanece não afetada por maior período do que a clorofila entre os feixes.
- **Ferro** – O Fe tem importante papel como componente de proteínas envolvidas na transferência de elétrons, como os citocromos e os centros Fe-S. Neste papel, ele é reversivelmente oxidado de Fe^{2+} para Fe^{3+} durante a transferência de elétrons. Como no caso do Mg^{2+} , deficiência de Fe apresenta-se como uma clorose internervural. Esta, no entanto, ocorre primeiro nas folhas mais novas devido a baixa mobilidade do Fe (precipita como óxidos ou fosfatos de ferro insolúveis ou como complexos com fitoferritina). A folha torna-se clorótica por que o ferro é requerido para a síntese de alguns complexos proteína-clorofila, nos cloroplastos.
- **Cobre** – Como o Fe, o cobre está associado a algumas enzimas envolvidas nas reações redoxes ($Cu^{2+} + e^- \rightleftharpoons Cu^+$). O principal exemplo é o complexo citocromo oxidase da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (respiração). Outro exemplo é a plastocianina, a qual está envolvida na transferência de elétrons durante as reações de luz da fotossíntese. O sintoma inicial de deficiência de cobre é a produção de folhas verde-escuras, que podem conter manchas necróticas. Sob deficiência severa as folhas podem cair prematuramente.
- **Zinco** - Algumas enzimas (desidrogenase alcoólica, anidrase carbônica, superóxido dismutase, etc.) requerem Zn^{2+} para suas atividades e ele pode ser requerido para

biossíntese de clorofila em algumas espécies. Deficiência de zinco é caracterizada pela redução no crescimento internodal. Este sintoma pode ser resultado da perda da capacidade da planta para produzir suficiente auxina (fitohormônio). Algumas evidências disponíveis indicam que o zinco pode ser requerido para a biossíntese do triptofano, o qual é um dos precursores da auxina natural, ácido indol-3-acético (AIA).

- **Manganês** – Os íons Mn^{2+} ativam algumas enzimas na célula, em particular, descarboxilases e desidrogenases envolvidas no ciclo de Krebs (respiração). No entanto, a função mais bem definida do Mn^{2+} é a sua participação na reação da fotossíntese na qual o O_2 é produzido a partir da água (H_2O). O principal sintoma de deficiência de Mn^{2+} é uma clorose internervural associada com pequenas manchas necróticas. Esta clorose pode ocorrer em folhas jovens ou velhas, dependendo da espécie vegetal e da taxa de crescimento.
- **Molibdênio** – Íons Mo (Mo^{4+} a Mo^{6+}) são componentes de algumas enzimas, incluindo a redutase do nitrato e a nitrogenase, enzimas envolvidas na redução de nitrato para nitrito ($NO_3^- \rightarrow NO_2^-$) e de nitrogênio atmosférico para amônio ($N_2 \rightarrow NH_4^+$), respectivamente. Assim, a deficiência de molibdênio pode aparecer como deficiência de nitrogênio se a fonte de N for o nitrato ou se a planta depende da fixação biológica de N_2 (simbiose). Embora o requerimento das plantas por Mo seja pequeno, a deficiência tem sido verificada no campo. Assim, pequenas adições de Mo, em tais condições, podem aumentar sensivelmente a produtividade com custos relativamente baixos.
- **Boro** – Embora a precisa função do boro (B) no metabolismo não esteja clara, evidências sugerem que ele executa papéis importantes no alongamento da célula, na síntese de ácidos nucleicos, nas respostas a hormônios e na integridade estrutural da parede celular. As plantas deficientes em boro exibem uma variedade de sintomas, dependendo da espécie e da idade da planta. Um sintoma característico é a necrose de folhas jovens e gemas terminais, o que reflete a sua baixa mobilidade na planta. A dominância apical pode também ser perdida e a planta pode ficar altamente ramificada. Além disso, estruturas como frutos e tubérculos podem exibir necroses ou anormalidades relacionadas com a degradação de tecidos internos.
- **Cloro** – O elemento cloro é encontrado nas plantas como cloreto (Cl^-). Ele é requerido na etapa da fotossíntese em que O_2 é produzido (foto-oxidação da H_2O). Em face de sua alta solubilidade e distribuição nos solos, a deficiência de Cl^- em plantas crescendo no campo não tem sido verificada. Ao contrário, em ambientes salinos as plantas podem acumular cloreto nas folhas em níveis tóxicos, produzindo a necrose de tecidos foliares.
- **Níquel** – A urease é a única enzima que necessita de Ni como cofator enzimático nas plantas superiores. Então, plantas deficientes em Ni acumulam uréia nas folhas, o que pode causar necrose no ápice. Em face das minúsculas concentrações de Ni requeridas pelas plantas, a deficiência raramente é observada em condições de campo. Por outro lado, alguns microrganismos fixadores de N_2 requerem Ni para a enzima hidrogenase, a qual re-processa o H_2 gerado durante a fixação simbiótica. Os microrganismos que possuem esta enzima dependente de níquel (como os rizóbios que nodulam a soja) são energeticamente mais eficientes.

- **Silício** – Apenas membros da família *Equisitaceae*, chamados juncos de polimento porque suas cinzas, ricas em sílica granulosa, eram usadas para polir painéis, requerem silício para completar seu ciclo de vida. No entanto, muitas outras espécies acumulam silício em seus tecidos e apresentam melhoria no seu crescimento e na fertilidade, quando supridas com quantidades adequadas de silício (Epstein, 1999). Plantas deficientes em silício são mais suscetíveis ao acamamento e à infecção fúngica. O silício é depositado principalmente no retículo endoplasmático, paredes celulares e espaços intercelulares como sílica amorfa hidratada ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). Ele também forma complexos com polifenóis e serve como alternativa à lignina no reforço de paredes celulares. Além disso, o silício pode aliviar a toxicidade de muitos metais pesados.
- **Sódio** – A maioria das espécies que utiliza as rotas C_4 e CAM de fixação de carbono requerem íons sódio para a regeneração do fosfoenolpiruvato. Sob deficiência de sódio, essas plantas exibem clorose e necrose ou deixam de florescer. Muitas espécies C_3 se beneficiam de uma exposição a baixos níveis de sódio. O sódio estimula o crescimento por meio de uma maior expansão celular, além de poder parcialmente substituir o potássio como um soluto osmoticamente ativo.

3 – TRANSPORTE DE ÍONS ATRAVÉS DA MEMBRANA

a) Transporte Passivo e Ativo

De acordo com a Lei de Fick, o movimento de moléculas por difusão poderá ocorrer a favor de um gradiente de concentração (gradiente químico), até que o equilíbrio seja atingido. Este tipo de movimento é chamado de transporte passivo. No entanto, a difusão através de membranas biológicas é bastante restrita, devido à baixa permeabilidade da bicamada lipídica para moléculas polares, com exceção da água. Na realidade, poucas substâncias de importância biológica apresentam natureza apolar e somente três (O_2 , CO_2 e NH_3) parecem atravessar a membrana por difusão simples através da bicamada lipídica. Portanto, as substâncias polares e iônicas devem atravessar as membranas biológicas através de outros mecanismos e por outras regiões e não por simples difusão.

Além da concentração, o transporte de solutos através de membranas biológicas pode ser impulsionado por outras forças: pressão hidrostática, gravidade (desprezível) e campos elétricos. Estas diversas fontes de energia potencial definem o potencial químico de um determinado soluto. A equação abaixo leva em consideração as principais forças associadas com o transporte através de membranas:

$$\mu_j = \mu_j^* + RT \ln C_j + z_j FE \quad \text{em que:}$$

μ_j = potencial químico

μ_j^* = potencial químico padrão

$RT \ln C_j$ = componente químico (concentração)

R = constante universal dos gases ($0,00831 \text{ kg MPa mol}^{-1} \text{ }^\circ\text{K}^{-1}$); e T = temperatura absoluta ($^\circ\text{C} + 273$); C_j = concentração molal (moles por kg de água);

$z_j FE$ = componente elétrico

z_j = valência; F = constante de Faraday; E = potencial elétrico

O potencial químico soma todas as forças que podem agir sobre a molécula durante o seu transporte. A soma dos termos da equação do potencial químico depende do soluto em estudo. O termo V_jP tem pouca importância no movimento de solutos através de membranas. No caso de solutos polares sem carga, como a sacarose, o potencial químico é aproximado ao do termo referente a concentração. Neste caso teremos:

- Potencial químico dentro da célula

$$\mu_j^i = \mu_j^* + RT \ln C_j^i$$

- Potencial químico fora da célula

$$\mu_j^o = \mu_j^* + RT \ln C_j^o$$

- Calculando-se a diferença, temos

$$\Delta\mu_j = \mu_j^i - \mu_j^o = RT (\ln C_j^i - \ln C_j^o) = RT \ln C_j^i / C_j^o$$

Se a concentração externa (C_j^o) for maior que a concentração interna (C_j^i) este termo será negativo, indicando que a sacarose poderá mover-se passivamente para dentro da célula.

Quando os solutos possuem carga elétrica (íons), o componente elétrico do potencial químico deve ser considerado. Para o K^+ podemos escrever:

$$\Delta\mu_j = \mu_j^i - \mu_j^o = RT \ln [K^i]/[K^o] + zF (E^i - E^o) \quad \text{em que } z=1 \text{ (valência)}$$

Esta equação mostra que íons, como o K^+ , difundem em resposta a seu gradiente de concentração $[K^i]/[K^o]$ e a diferença de potencial elétrico ($E^i - E^o$) entre os dois compartimentos. Nestes casos, nos referimos ao **POTENCIAL ELETROQUÍMICO**.

Em relação ao transporte através de membranas biológicas, podemos definir (Figura 3):
TRANSPORTE PASSIVO – É o transporte que ocorre a favor do gradiente de potencial químico ou eletroquímico.

TRANSPORTE ATIVO – É o transporte que ocorre contra o gradiente de potencial químico ou eletroquímico.

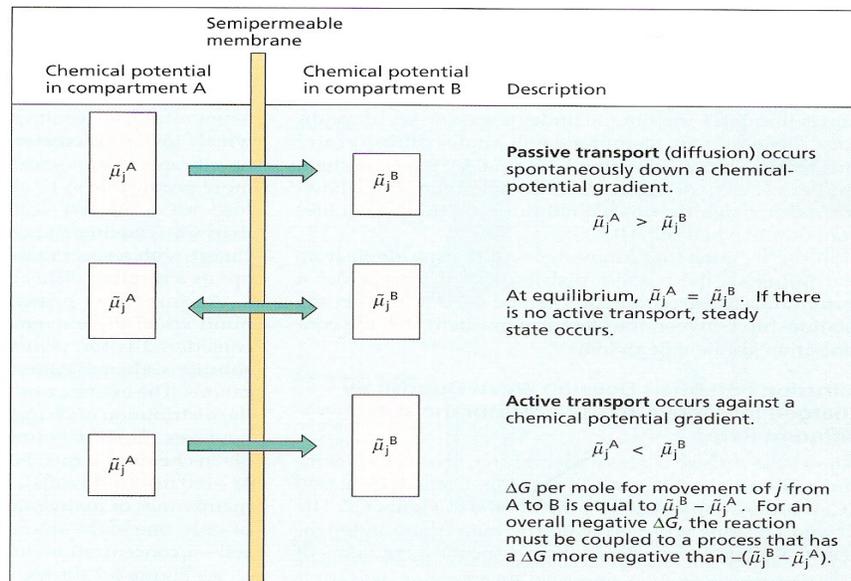


Figura 3 – Relacionamento entre o potencial químico e o tipo de transporte de moléculas através da membrana (Taiz & Zeiger, 2000).

b) Mecanismos de Transporte de Íons Através da Membrana Celular

Membranas artificiais têm sido bastante usadas para estudar a permeabilidade de membranas fosfolipídicas. Devido à sua natureza apolar, as bicamadas lipídicas são altamente impermeáveis para íons (Figura 4) e moléculas polares. Estas bicamadas são altamente permeáveis ao O_2 e têm elevadas permeabilidades à água, ao CO_2 e ao glicerol. A elevada permeabilidade à água deve-se à interação desta molécula com os grupos polares dos fosfolipídios e ao seu pequeno tamanho. Em geral, quando as moléculas aumentam em tamanho e polaridade, suas permeabilidades nas membranas fosfolipídicas **decrecem**.

Quando as permeabilidades de bicamadas artificiais para íons e moléculas são comparadas com as de membranas biológicas (Figura 4), observa-se que para moléculas não polares e pequenas moléculas polares, ambas possuem permeabilidades similares (para a água a permeabilidade é ligeiramente maior na membrana biológica). Por outro lado, para íons e, também, para moléculas polares de maior tamanho, como açúcares, as membranas biológicas são muito mais permeáveis. Estas diferenças devem-se à presença de proteínas integrais nas membranas biológicas, as quais facilitam a passagem de íons e moléculas polares.

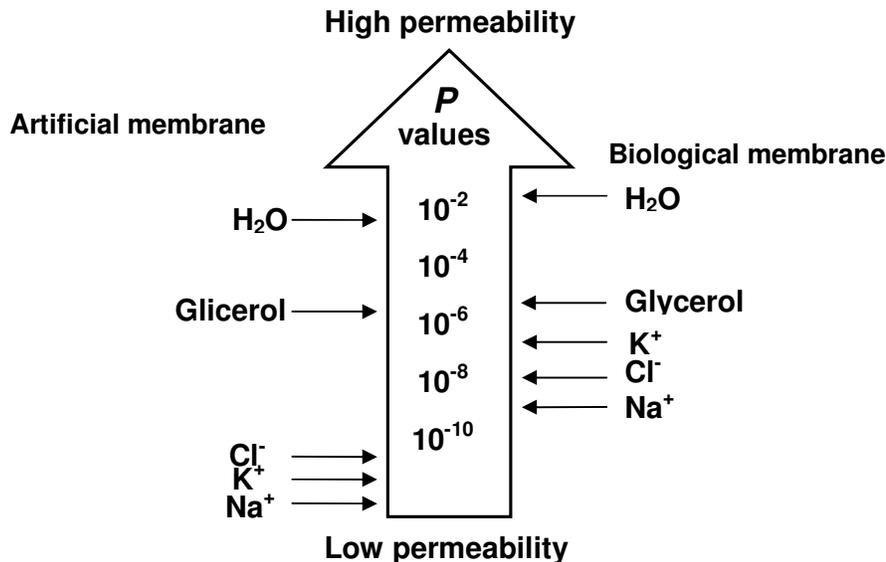


Figura 4 – Permeabilidade, em $cm\ s^{-1}$, para substâncias difundindo através de bicamadas lipídicas artificiais e de membranas biológicas (Taiz & Zeiger, 1998)

Estas proteínas transportadoras podem ser agrupadas em três categorias. CANAIS, CARREADORES E BOMBAS (Figura 5). Estes transportadores apresentam seletividade e transportam um soluto ou um grupo de solutos relacionados.

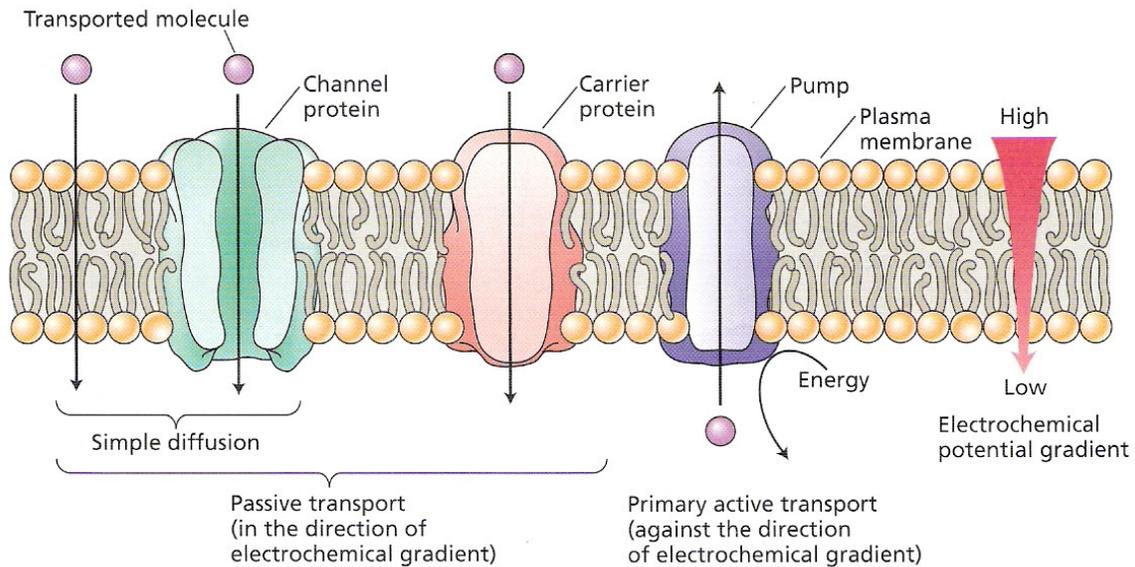


Figura 5 – As três classes de proteínas de transporte através de membranas (Taiz & Zeiger, 1998)

Em geral, os CANAIS (velocidade de difusão é extremamente rápida, cerca de 10^6 a 10^8 moléculas por segundo) são proteínas integrais que funcionam como um poro seletivo na membrana. O tamanho do poro e a densidade de cargas na superfície do canal determinam a sua especificidade. Estes canais não permanecem constantemente abertos e parecem abrir em resposta a sinais ambientais. O transporte através de canais é sempre passivo (a favor de gradiente de potencial eletroquímico), e limita-se a transportar íons e água. As proteínas que formam canais para o transporte de água são chamadas de AQUAPORINAS.

Nos transportes mediados por CARREADORES e BOMBAS são observados os seguintes passos:

- A substância a ser transportada é inicialmente ligada a um sítio específico do carreador ou bomba;
- A ligação causa uma mudança conformacional da proteína, a qual expõe a substância na solução do outro lado da membrana;
- O transporte é completado quando a substância dissocia do sítio de ligação do carreador ou bomba e este retorna para a configuração inicial.

A necessidade dessa mudança conformacional, torna a taxa de transporte via carreador (10^3 moléculas por segundo) ou bomba (10^2 moléculas por segundo) muitas vezes menor do que a taxa de transporte via canal.

O transporte mediado por CARREADORES, diferente do transporte via canal, pode ser passivo ou ativo e pode transportar um amplo número de substâncias. O transporte passivo via carreador é algumas vezes conhecido como **difusão facilitada**, embora ele se assemelhe à difusão somente por que o transporte ocorre a favor de um gradiente (a difusão ocorre a favor de um gradiente de concentração e o transporte passivo via carreador ocorre a favor de um gradiente de potencial eletroquímico). Já para realizar o transporte ativo, um carreador deve

acoplar o transporte do soluto contra o seu gradiente de potencial eletroquímico com o transporte de outro soluto a favor do seu gradiente (**transporte ativo secundário**).

O transporte mediado por BOMBAS é conhecido como **transporte ativo primário**. Este tipo de transporte é acoplado diretamente a uma fonte de energia metabólica, tal como hidrólise de ATP (Figura 6). Muitas destas bombas protéicas transportam íons, tais como H^+ e Ca^{2+} . As bombas iônicas podem ser caracterizadas, também, como eletrogênicas ou eletroneutras. Em geral, o transporte eletrogênico refere-se ao movimento líquido de carga através da membrana. Por exemplo, a H^+ -ATPase de células de plantas bombeia H^+ para o meio externo (parede celular) e gera um gradiente de cargas sobre a membrana. Já a H^+/K^+ -ATPase da mucosa gástrica de animais permite a troca de um H^+ por um K^+ , não produzindo movimento líquido de cargas através da membrana. Esta última bomba é eletroneutra.

Na membrana plasmática de plantas, de fungos e de bactérias, bem como no tonoplasto e outras endomembranas, o H^+ é o principal íon que é transportado eletrogenicamente através da membrana. A H^+ -ATPase da membrana plasmática cria o gradiente de potencial eletroquímico de H^+ entre o meio externo e o citosol. Como os H^+ são transportados para o meio externo, o potencial de membrana no lado interno fica negativo e no lado externo fica positivo. Medições realizadas com microeletrodos, colocados nos lados interno e externo de células vegetais, indicam que a H^+ -ATPase da plasmalema produz um excesso de voltagem variando de -60 a -240 mV. Por outro lado, a H^+ -ATPase vacuolar e a H^+ -Pirofosfatase bombeiam H^+ eletrogenicamente no lúmen do vacúolo, gerando um gradiente eletroquímico de H^+ entre o citosol e o vacúolo.

Na membrana plasmática de plantas somente H^+ e Ca^{2+} parecem ser transportados pelas bombas, sendo que a direção do bombeamento é para o meio externo. Isto significa que outro mecanismo é necessário para a absorção ativa de muitos nutrientes minerais e também de moléculas orgânicas. Este outro mecanismo envolve o acoplamento do transporte contra gradiente de um soluto com o transporte de outro soluto a favor de seu gradiente (Figura 7). Este cotransporte mediado por carreador é denominado **transportes ativos secundário**, sendo impulsionado indiretamente pelas bombas.

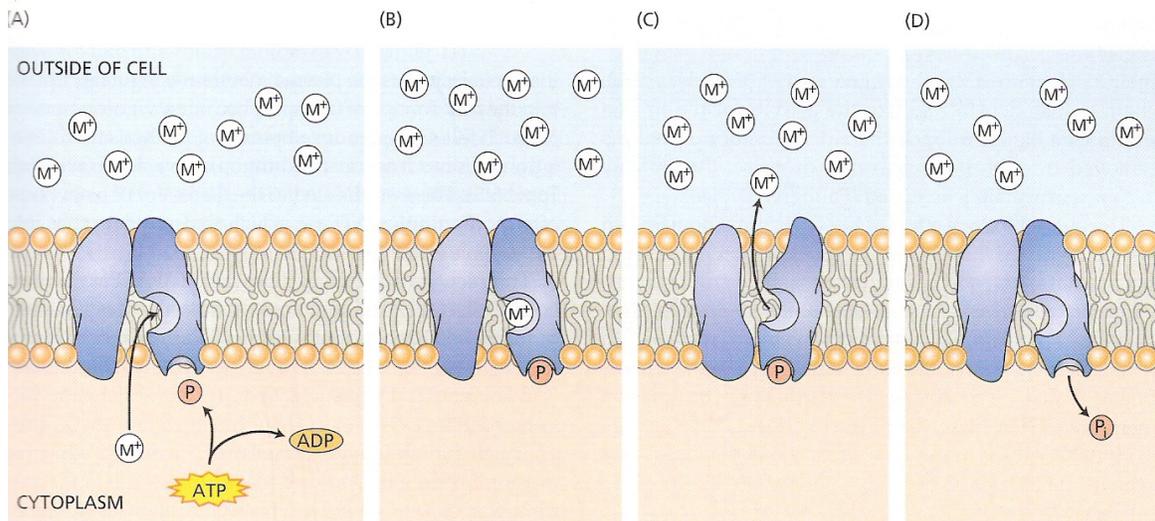


Figura 6 – Etapas hipotéticas no transporte ativo de um cátion (nas plantas é o H^+) mediado por uma bomba eletrogênica (Taiz & Zeiger, 1998)

Quando os H^+ sofrem extrusão do citosol (colocados para o meio externo ou para o vacúolo) pelas H^+ -ATPases, um potencial de membrana (componente elétrico) e um gradiente de pH (componente químico) são criados nas membranas plasmática e vacuolar, às expensas da hidrólise de ATP. O gradiente de potencial eletroquímico, conhecido como força motiva de prótons, Δp , representa a energia livre estocada na forma de gradiente de H^+ que pode ser utilizada para o transporte de outros íons e moléculas.

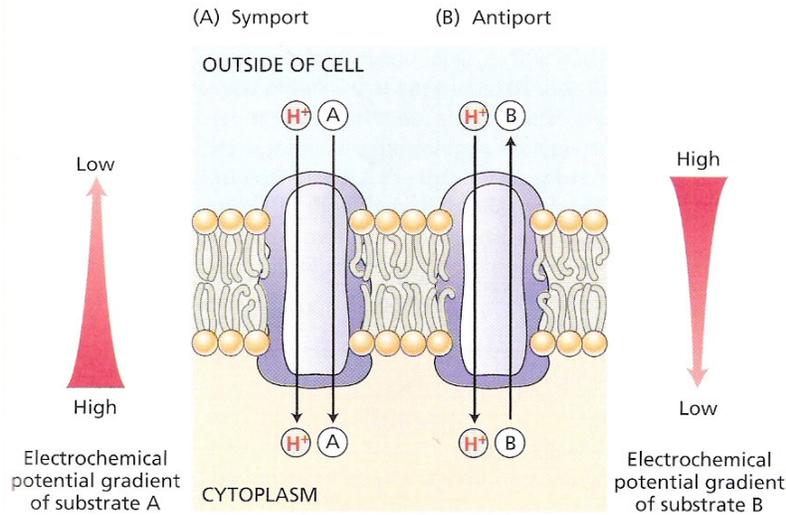


Figura 7 – Os dois tipos de transporte ativo secundário acoplado ao gradiente primário de prótons (Taiz & Zeiger, 1998).

A força motiva de prótons gerada pela bomba eletrogênica é usada para impulsionar o transporte de muitas outras substâncias contra seu gradiente de potencial eletroquímico, no transporte ativo secundário. O carreador é uma proteína transmembranar com um sítio de ligação no lado externo da membrana que permite a ligação do H^+ . O próton ligado ao carreador modifica a conformação da proteína, que expõe um outro sítio, o de ligação, ao qual se liga o soluto a ser transportado. Com as duas substâncias ligadas, a proteína muda de conformação e expõe os sítios no lado oposto da membrana, onde as substâncias são liberadas. Este tipo de co-transporte é conhecido como **simporte**, pois as duas substâncias movem-se na mesma direção. Quando o movimento de um H^+ impulsiona o transporte ativo de um soluto na direção oposta, o co-transporte é chamado de **antiporte** (Figura 7).

Nos dois tipos de co-transporte, o soluto que está sendo transportado simultaneamente com o H^+ , se move contra o seu gradiente de potencial eletroquímico, ficando claro que se trata de transporte ativo.

Em plantas e fungos, açúcares e aminoácidos são absorvidos via simporte com prótons (exemplo, H^+ - Sacarose). O Na^+ é transportado para fora da célula no antiporte Na^+ - H^+ e os ânions Cl^- , NO_3^- e $H_2PO_4^-$ são absorvidos via simporte. O K^+ em baixas concentrações pode ser tomado ativamente via simporte, porém, em altas concentrações, pode ser absorvido passivamente via canais. O Ca^{2+} é absorvido passivamente via canais, porém, sua concentração no citosol é mantida em valores muito baixos (0,15-0,50 μM) devido a atividade de uma Ca^{2+} -ATPase na membrana plasmática, que transporta o Ca^{2+} para o espaço extracelular, e de um antiporte Ca^{2+} - H^+ no tonoplasto, que transporta o Ca^{2+} para dentro do

vacúolo. Além disso, uma Ca^{2+} -ATPase na membrana do retículo endoplasmático pode promover o armazenamento de Ca^{2+} no interior dessa organela.

c) Análise Cinética do Transporte

Como o transporte celular via carreador ou bomba envolve a ligação e a dissociação de moléculas nos sítios de ligação da proteína de transporte, ele tem sido estudado, também, pelo uso da cinética enzimática (Figura 8).

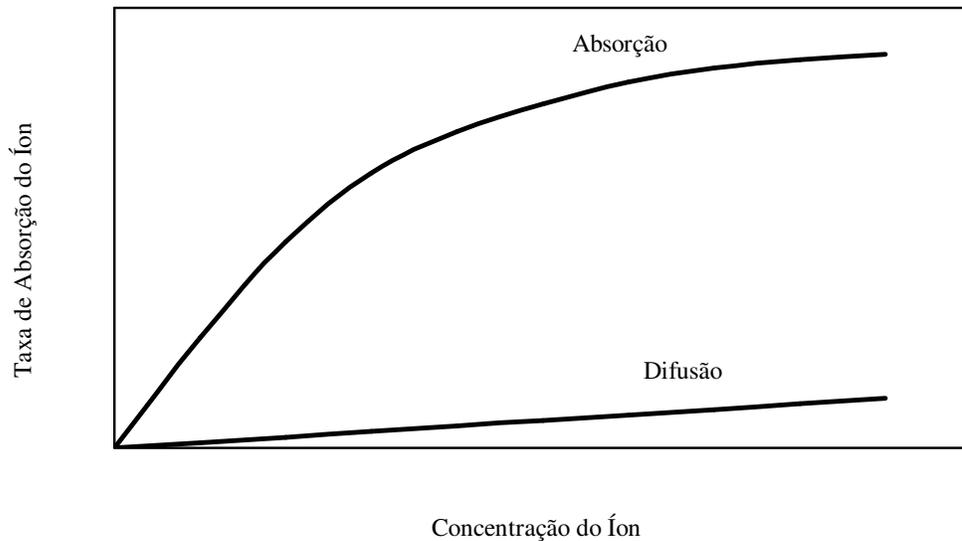


Figura 8 – Influência da concentração de um íon no meio externo sobre as taxas de difusão simples e de absorção via carreador (Salisbury & Ross, 1991).

Na difusão simples, a taxa de transporte para dentro da célula é proporcional à concentração externa da molécula transportada (Figura 8). Neste caso, o transporte é completamente passivo, porém, muito lento. Por outro lado, o transporte mediado por carreador tende para uma taxa máxima (V_{\max}), que é alcançada quando todos os sítios de ligação do substrato estão ocupados. A concentração do carreador, não a do soluto, tornam a taxa limitante. A constante K_m , concentração do soluto que produz $V_{\max}/2$, tende a refletir as propriedades do sítio de ligação, em particular, a especificidade. Assim, quanto menor o K_m , maior a especificidade (maior a preferência pelo soluto e maior seletividade).

Estudos da cinética de absorção têm mostrado que, em alguns casos, a resposta parece ser alterada quando se varia amplamente a concentração do soluto. A absorção de sacarose, por exemplo, apresenta saturação em baixa concentração (0 a 10 mM), porém, acima desta concentração a absorção torna-se linear e não saturável. A interpretação é que sacarose é absorvida ativamente em baixas concentrações, via um simporte sacarose – H^+ . Em maiores concentrações, sacarose entra a favor de seu gradiente de concentração e a sua absorção não é sensível a inibidores metabólicos. Essa última fase pode representar a absorção via um carreador de muito baixa afinidade. Para o K^+ , o transporte em baixa concentração é mediado por um simporte K^+ - H^+ . O transporte de baixa afinidade (absorve K^+ em altas concentrações) não parece ser saturável como se acreditava inicialmente. Este transporte pode ser mediado por canal.

4 – ABSORÇÃO DE ÍONS PELAS RAÍZES

a) Seletividade da Absorção

A absorção de água e de íons minerais ocorre, predominantemente, através do sistema radicular, o qual está inserido em um meio heterogêneo e cambiante (notadamente nos seus aspectos químicos), o solo. Isto implica que a raiz além de se desenvolver dentro do solo deve ter mecanismos que permitam selecionar os nutrientes que a planta necessita para o seu crescimento. A membrana celular representa a barreira, por onde a planta pode controlar a entrada e saída de diversos solutos.

Em geral, o transporte é altamente seletivo, ou seja, a membrana tem preferência por alguns íons e esta preferência é determinada pelas proteínas de transporte na membrana (Figura 5). Nota-se na tabela 4, por exemplo, que a membrana celular de raízes de milho permite um acúmulo de K^+ cerca de mil vezes maior do que o de Na^+ e de NO_3^- cerca de treze vezes superior que o de SO_4^{2-} . As baixas concentrações de Na^+ em células de plantas (diferente das células animais) resulta da reduzida absorção e também da atividade do antiporte Na^+-H^+ , que transporta o Na^+ para o meio externo.

Tabela 4 – A seletividade na absorção de íons por raízes de milho (Hopkins, 2000)

Íon	Concentração Interna (Ci) (mM)	Concentração Externa (Ce) (mM)	Ci / Ce
K^+	160	0,14	1142
Na^+	0,6	0,51	1,18
NO_3^-	38	0,13	292
SO_4^{2-}	14	0,61	23

b) O Solo como Fornecedor de Nutrientes

O solo é um substrato complexo em termos físicos, químicos e biológicos. É composto das fases sólida, líquida e gasosa, as quais interagem com os elementos minerais. As partículas inorgânicas da **fase sólida** providenciam o reservatório de nutrientes, tais como K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , etc. Também associadas à fase sólida do solo estão as partículas orgânicas (oriundas da decomposição de restos orgânicos), as quais contêm elementos essenciais, como N, P, S, dentre outros. A **fase líquida** do solo constitui a solução do solo, a qual contém íons dissolvidos e serve como meio para o movimento de íons para a superfície das raízes. Os GASES, tais como O_2 , CO_2 e N_2 , estão dissolvidos na solução do solo, porém, sua absorção pelas raízes ocorre predominantemente nas bolhas de ar entre as partículas do solo.

As partículas coloidais (micelas) do solo, orgânicas (pectinas com COO^- e hemiceluloses com OH^-) e inorgânicas (caolinita, smectita e ilita), têm cargas negativas na sua superfície. Os cátions como Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , NH_4^+ , dentre outros, ficam adsorvidos às cargas negativas das partículas do solo (Figura 9). Nesta situação, eles não são facilmente perdidos por lixiviação e representam uma reserva de nutrientes para a planta. Estes íons podem ser substituídos no complexo de troca, um processo conhecido como troca de cátions. A **capacidade de troca de cátions** (CTC) é altamente dependente do tipo de solo. Solos com partículas menores (argila), têm uma maior superfície específica (relação área superficial/volume). Estes solos, e também os solos ricos em matéria orgânica, possuem

maior superfície de cargas expostas e, portanto, maior CTC. Um solo que tem alta CTC possui maior reserva de nutrientes minerais. A fertilidade deste solo será completa se esta maior CTC for devida a elevada percentagem de saturação de bases (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , NH_4^+). Presença de elementos tóxicos, como alumínio (Al^{3+}), pode acarretar problemas para o crescimento das plantas.

Ânions como NO_3^- e Cl^- são repelidos pelas cargas negativas das partículas do solo e permanecem dissolvidos na solução do solo, ficando sujeitos à lixiviação. Já os fosfatos (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) podem permanecer fixados ao solo contendo Al^{3+} e Fe^{3+} , por que formam sais insolúveis, tais como AlPO_4 e FePO_4 . O sulfato (SO_4^{2-}), na presença de Ca^{2+} forma o gesso (CaSO_4), o que limita a mobilidade deste ânion no solo.

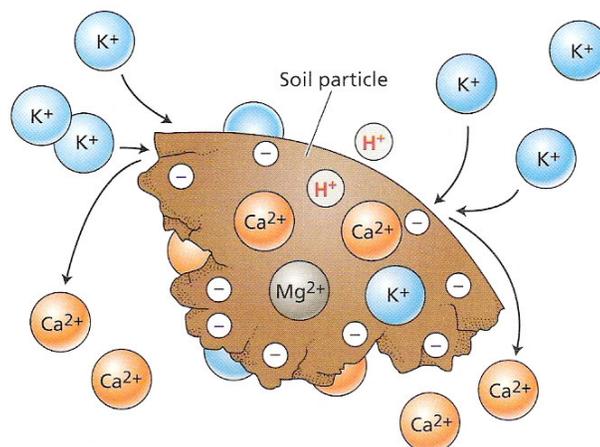


Figura 9 – O processo de troca de cátions nas superfícies das partículas do solo (Taiz & Zeiger, 1998).

c) Absorção pelas Raízes: uma visão longitudinal

A capacidade das plantas para obter água e nutrientes minerais do solo está relacionada com sua capacidade para desenvolver um extensivo sistema radicular. O desenvolvimento do sistema radicular de mono e de dicotiledôneas depende, em grande parte, da atividade do meristema apical das raízes. Na região apical das raízes é possível observar três regiões distintas: a zona meristemática, a zona de alongamento e a zona de maturação (Figura 10).

Abaixo da zona meristemática encontra-se uma região conhecida como coifa, a qual protege o meristema e parece ser fundamental na percepção da gravidade (gravitropismo). Na coifa ocorre também a produção de mucilagem que parece evitar a dessecação do ápice radicular. Na zona meristemática propriamente dita, encontra-se um centro quiescente (pouca divisão celular) logo acima da coifa. Mais acima do centro quiescente tem outra região de rápida divisão celular.

Na região de alongamento ocorre a formação da endoderme, com as estrias de Caspary. Em seção transversal observa-se que a endoderme divide a raiz em duas partes: o córtex para fora e o cilindro central para dentro. O cilindro central contém os tecidos vasculares: floema (transporta metabólitos da parte aérea para as raízes) e xilema (transporta água e solutos para a parte aérea). É interessante notar que o floema se desenvolve antes do xilema, o que pode ser fundamental para “alimentar” o ápice, favorecendo o crescimento da raiz.

Os pêlos radiculares, que são extensões das células da epiderme da raiz, aparecem na zona de maturação, e aumentam grandemente a superfície para absorção de água e nutrientes. É, também, na zona de maturação que o xilema apresenta-se mais desenvolvido, com capacidade para transportar quantidades substanciais de água e de solutos para a parte aérea.

A absorção de íons é mais pronunciada em raízes jovens. Nestas raízes, tem sido observado, em geral, uma queda na taxa de absorção de íons a medida que se distancia do ápice radicular. No entanto, esta tendência varia bastante, dependendo de fatores, como tipo de íon (nutriente), estado nutricional e espécie vegetal estudada. Em raízes de milho, por exemplo, observou-se que a taxa de absorção de K^+ variou pouco ao longo das raízes jovens (Tabela 5). Neste mesmo estudo se observou uma redução considerável na absorção de Ca^{2+} nas zonas mais distantes do ápice.

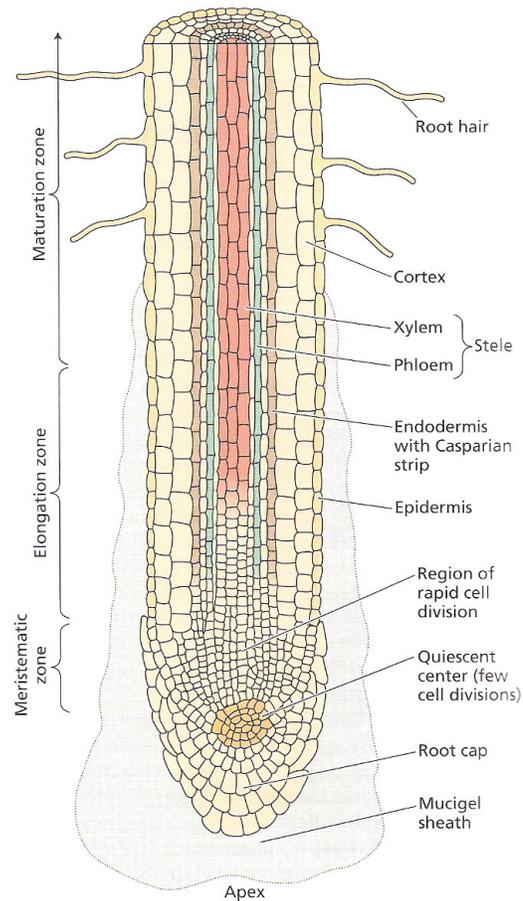


Figura 10 – Diagrama de uma seção longitudinal da região apical da raiz (Taiz & Zeiger, 1998).

Tabela 5 - Taxa de absorção de ^{42}K e ^{45}Ca supridos a diferentes zonas de raízes seminais de milho, em meq (24 horas) $^{-1}$ por 12 plantas (Marschner, 1995)

Nutriente (1 meq L $^{-1}$)	Zona da Raiz (distância a partir do ápice, cm)		
	0 - 3	6 - 9	12 - 15
Potássio	15,3	22,7	19,5
Cálcio	6,5	3,8	2,8

Em adição, as raízes de mais de 80% de todas as plantas estudadas, incluindo praticamente todas as espécies de importância econômica, formam associações conhecidas como micorrizas (fungo-planta). Uma micorriza é uma associação simbiótica entre um fungo não patogênico e as células de raízes jovens, particularmente as células epidérmicas e corticais (Figura 11). O fungo recebe nutrientes orgânicos (carboidratos) da planta e, em contrapartida, melhora a capacidade das raízes para absorver água e nutrientes minerais do solo. As hifas de alguns fungos formam uma manta na superfície da raiz e penetram entre as células do córtex (**micorriza ectotrófica**). As hifas de outros fungos se desenvolvem nos espaços intercelulares do córtex e penetram em algumas células individuais, formando vesículas (**micorriza vesicular arbuscular**). Nos dois tipos de associação, as hifas do fungo crescem também para o meio externo (solo), aumentando grandemente a capacidade para absorver alguns nutrientes encontrados em baixas concentrações na solução do solo, como fosfato e alguns micronutrientes (Zn, Cu)

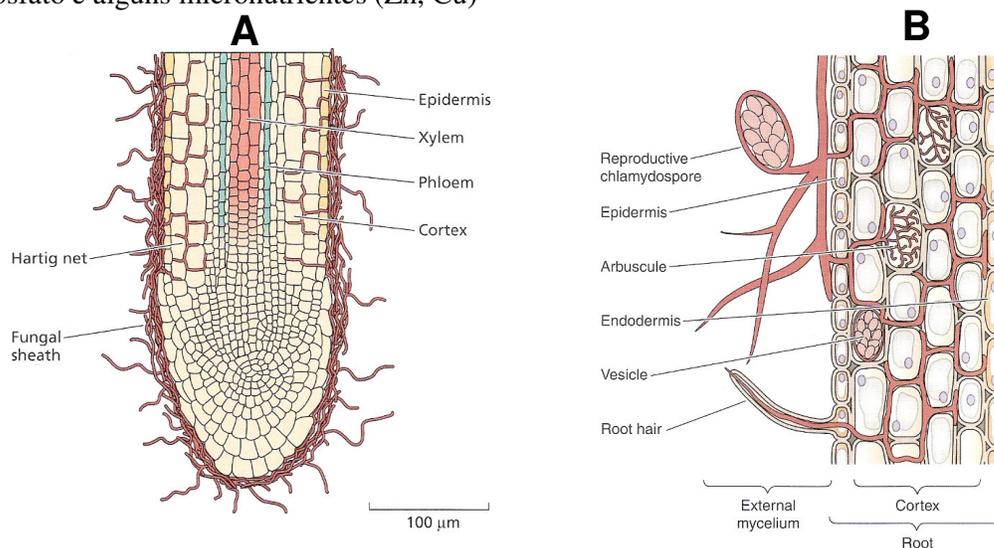


Figura 11 – Associação de fungos ectotróficos (A) e vesicular-arbuscular com raízes de plantas (Taiz & Zeiger, 1998)

d) Absorção pelas Raízes: uma visão transversal

No solo, os nutrientes podem se mover para as superfícies radiculares dissolvidos no fluxo em massa de água ou por difusão. No fluxo em massa, os nutrientes são carregados pela água que está se movendo do solo para a raiz. Como vimos na unidade III (Relações Hídricas), o fluxo em massa ocorre por diferença de pressão, a qual é determinada, primariamente, pela taxa de transpiração. Assim, a quantidade de nutriente suprida por fluxo em massa depende da transpiração e da concentração do nutriente na solução do solo. Quando ambas são altas, o fluxo em massa passa a ter importante papel na aquisição de nutrientes. Em geral, nutrientes como Ca^{2+} e NO_3^- são transportados para a superfície das raízes por fluxo em massa.

Na difusão, nutrientes minerais movem-se de uma região de maior para outra de menor concentração. A absorção de nutrientes pela raiz diminui a concentração dos íons nesta região e favorece a difusão em direção à superfície radicular. Quando a difusão é lenta, cria-se uma zona de esgotamento do nutriente próximo à superfície da raiz. Normalmente, a difusão é importante para nutrientes encontrados em baixas concentrações na solução do solo, como é o caso do fósforo (HPO_4^{2-}).

Ao chegar na superfície da raiz o íon pode seguir diferentes caminhos. Em termos de transporte de pequenas moléculas, a parede celular é uma treliça aberta de polissacarídeos através do qual os elementos minerais se difundem livremente. O contínuo de paredes celulares e espaços intercelulares é conhecido como **apoplasto**. Similarmente, os citoplasmas de células vizinhas, conectadas através dos plasmodesmas, formam um contínuo, coletivamente conhecido como **simplasto**, por onde os íons e moléculas podem também se mover. O apoplasto forma um contínuo que engloba as células da epiderme e do córtex. Entre o córtex e o cilindro central existe uma camada de células especializadas, a **endoderme**. Nessa camada de células se formam as estrias de Caspary (deposição de uma substância hidrofóbica, a suberina, nas paredes radiais das células da endoderme), que bloqueiam efetivamente a entrada de água e de íons minerais no cilindro central, via apoplasto. Assim, podemos resumir (Figura 12):

- Na raiz, um íon pode entrar via simplasto imediatamente na membrana plasmática das células epidérmicas (inclusive nos pêlos radiculares) ou ele pode se difundir entre as células da epiderme e córtex, via apoplasto.
- Do apoplasto do córtex, um íon pode difundir-se radialmente para a endoderme ou entrar via membrana da célula cortical, no simplasto.
- Em todos os casos, o íon deve entrar no simplasto, antes que ele chegue ao cilindro central, devido a presença das estrias de Caspary nas células da endoderme.

OBS: Alguns livros se referem ao **espaço livre aparente**. Este pode ser definido como o volume radicular, constituído pelas paredes celulares, espaços intercelulares e superfícies externas à plasmalema, limitado pelas Estrias de Caspary presentes na endoderme. O íon no espaço livre aparente ainda não está absorvido pela planta e pode se difundir facilmente para o meio externo.

Após o íon ter entrado no cilindro central através do simplasto, ele continua a se difundir de célula para célula. Finalmente, o íon retorna para o apoplasto (do cilindro central) e difunde-se para dentro do xilema. Novamente, as estrias de Caspary evitam que o íon retorne para o apoplasto do córtex (**espaço livre aparente**). Assim, a planta pode manter uma maior concentração iônica no xilema do que no meio em que a raiz está crescendo (solução do solo).

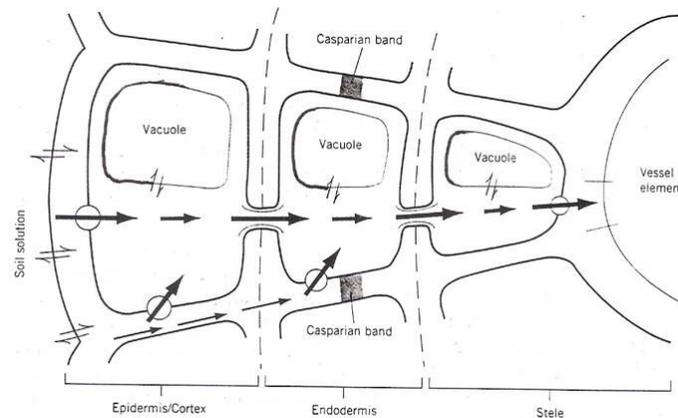


Figura 12 – Diagrama mostrando o movimento radial de íons através da raiz (Hopkins, 2000)

Os nutrientes minerais, uma vez no xilema, são carregados para a parte aérea pelo fluxo transpiratório. Algumas vezes, a ascensão da seiva xilemática é promovida pela pressão radicular, particularmente em algumas espécies, quando os solos estão úmidos e a umidade relativa do ar é alta, tal como ocorre durante as primeiras horas do dia (transpiração praticamente ausente).

Na parte aérea, alguns nutrientes minerais podem ser **redistribuídos** pelo **floema**, particularmente, os que são **móveis**.

5 – AS PLANTAS E O NITROGÊNIO

a) O ciclo do Nitrogênio

O conteúdo total de nitrogênio é geralmente distribuído em três principais partes: atmosfera, solo (incluindo os lençóis subterrâneos de água) e o nitrogênio contido na biomassa. O padrão complexo de troca de N entre os três ambientes é conhecido como **ciclo do nitrogênio** (Figura 13). Em torno de 270 milhões de toneladas de N_2 da atmosfera são transferidos para o solo por ano.

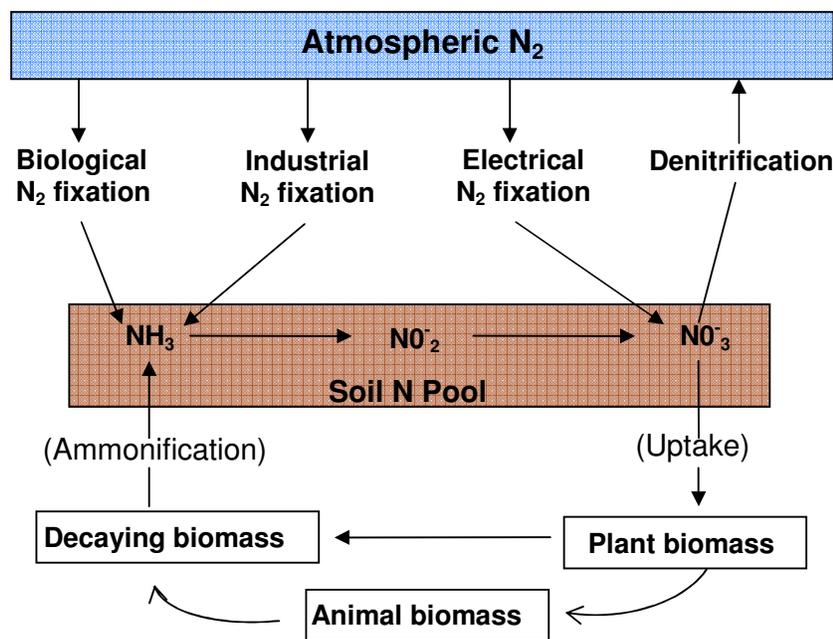


Figura 13 – O ciclo do nitrogênio, ilustrando o relacionamento entre o pool de nitrogênio: atmosfera, solo e biomassa (Hopkins, 2000).

O **pool** de nitrogênio encontrado no solo é central para a idéia do ciclo do nitrogênio. O nitrogênio do solo entra na biomassa principalmente na forma de NO_3^- , absorvido pelas plantas e microorganismos. Uma vez absorvido, o nitrato é convertido para NH_4^+ , e este último é assimilado em aminoácidos e outros compostos nitrogenados, os quais constroem as proteínas e outras macromoléculas. O nitrogênio “move-se” na cadeia alimentar quando os animais se alimentam das plantas. O nitrogênio retorna para o solo através dos resíduos animais ou após a morte e subsequente decomposição de todos os organismos.

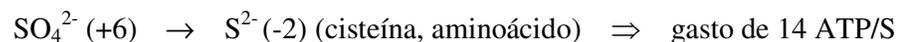
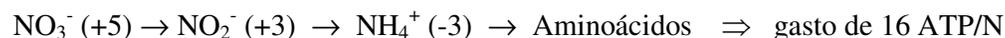
No processo de decomposição, o nitrogênio orgânico é convertido para NH_3 por uma variedade de microorganismos. Este processo é conhecido como **amonificação**. Parte da amônia pode retornar para a atmosfera por volatilização (100 milhões de toneladas por ano), porém a maioria é convertida para nitrato pelas bactérias do solo. A primeira etapa na formação de nitrato é a oxidação de NH_3 para NO_2^- pelas bactérias do gênero *Nitrosomonas*

ou *Nitrococcus*. O nitrito é posteriormente oxidado para nitrato por bactérias do gênero *Nitrobacter*. Estes dois grupos de microorganismos são conhecidos como bactérias nitrificantes e o processo que resulta das suas atividades é conhecido como **nitrificação**.

Um outro processo que ocorre nos solos é a **desnitrificação** (170 milhões de toneladas por ano). Neste caso, algumas bactérias reduzem o nitrato para nitrogênio gasoso (N_2 , NO, N_2O e NO_2), o qual é perdido para a atmosfera. Estas bactérias utilizam NO_3^- , no lugar de O_2 , como receptor final de elétrons para a respiração. Este processo é comum em ambientes pobres em oxigênio (solos inundados ou compactados, etc.), podendo acarretar perdas consideráveis de nitrogênio.

b) Assimilação de Nitrogênio

A incorporação de nutrientes minerais em substâncias orgânicas, tais como pigmentos, co-fatores enzimáticos, lipídios, ácidos nucleicos e aminoácidos, é denominada de **assimilação**. A assimilação de alguns nutrientes, particularmente N e S, requer uma série complexa de reações bioquímicas que estão entre as reações que mais requerem energia nos organismos vivos:



Somente oxigênio, carbono e hidrogênio são encontrados nas plantas em maior abundância do que o nitrogênio. O N pode ser absorvido pelas raízes das plantas nas formas de NO_3^- e NH_4^+ ou pode ser fixado biologicamente numa associação simbiótica com microorganismos em que N_2 ($N \equiv N$) é convertido inicialmente para NH_3 .

As plantas podem estocar altos níveis de nitrato ou podem transportá-lo via xilema sem que ocorra efeito deletério sobre os tecidos. No entanto, o consumo de plantas com altos níveis de nitrato por humanos e animais, por exemplo, pode provocar uma doença conhecida como metemoglobinemia (o fígado reduz $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$, e este se combina com a hemoglobina, impossibilitando a ligação do O_2). A assimilação de nitrato é, portanto, muito importante para evitar o excesso desse íon nos tecidos vegetais, principalmente nos comestíveis.

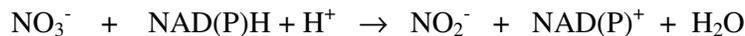
Ao contrário do nitrato, altos níveis de amônio são tóxicos tanto para as plantas como para os animais. Esse cátion pode agir no desacoplamento do transporte de elétrons da fotossíntese e da respiração, dissipando o gradiente eletroquímico de H^+ gerado entre os dois lados da membrana, sem que ocorra a produção de ATP. Assim, as plantas assimilam o NH_4^+ próximo ao sítio de absorção ou produção, evitando os efeitos tóxicos sobre as enzimas do citosol.

A forma de assimilação de nitrogênio depende da forma em que ele é obtido pela planta. Se o N é fornecido na forma de nitrato (NO_3^-), a planta, primeiramente, reduz este íon para nitrito (NO_2^-) e, então, para amônio (NH_4^+), sendo este último assimilado nos compostos orgânicos (primariamente aminoácidos). Quando a planta absorve NH_4^+ , ele pode ser imediatamente assimilado em compostos orgânicos. Este amônio pode ser produzido pela planta, como ocorre na fotorrespiração e na fixação biológica de nitrogênio. Veremos abaixo as etapas na assimilação de N, começando pela redução do nitrato:

- **Redução do Nitrato**

As plantas reduzem a maioria do NO_3^- absorvido pelas raízes e incorpora o nitrogênio reduzido (NH_4^+) em compostos orgânicos, podendo, no entanto, parte do nitrato permanecer armazenada nos vacúolos. A maioria das espécies tem a capacidade para reduzir o NO_3^- tanto nas raízes como na parte aérea. A percentagem de redução de cada parte da planta depende de alguns fatores, incluindo a espécie vegetal e o nível de NO_3^- suprido para as raízes. Em geral, quando a quantidade de NO_3^- é baixa, a redução ocorre predominantemente no sistema radicular.

A primeira reação envolvida no processo é a redução de nitrato para nitrito, no citosol, catalisada pela enzima Redutase do Nitrato:



A forma mais comum da Redutase do Nitrato usa NADH como doador de elétrons. Outras formas encontradas predominantemente em tecidos não verdes, como raízes, podem usar NADH e NADPH.

A Redutase do Nitrato de plantas superiores é um dímero, composto de duas subunidades idênticas com massas moleculares de 100 kDa (Figura 14). Cada subunidade contém três grupos prostéticos: FAD, um grupo Heme e um complexo molibdênico (é por isso que deficiência de Mo pode causar acúmulo de NO_3^-). O FAD recebe elétrons do NADH. Em seguida, os elétrons passam pelo grupo Heme, chegam ao complexo molibdênico, de onde são transferidos para o nitrato que é reduzido para nitrito.

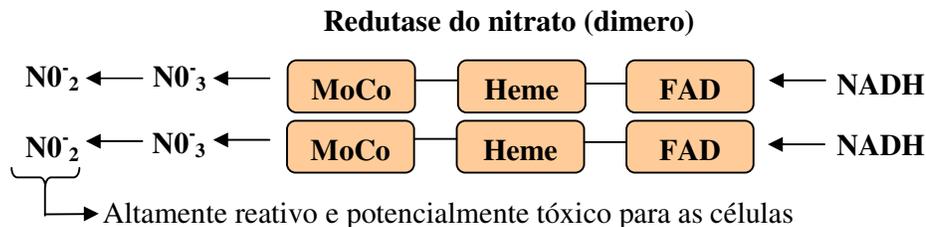
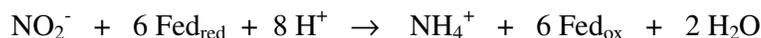


Figura 14 – Um modelo da redutase do nitrato, mostrando as duas subunidades e seus grupos prostéticos (Taiz & Zeiger, 1998)

A expressão do gen que codifica a redutase do nitrato e a atividade da enzima variam com a concentração de NO_3^- e com os níveis de luz e de carboidratos. Estes últimos fatores estimulam uma proteína fosfatase que desfosforila alguns resíduos de serina na redutase do nitrato, ativando-a. De modo inverso, escuro e Mg^{2+} estimulam uma quinase que fosforila o mesmo resíduo de serina e inativa a enzima.

- **Redução do Nitrito**

O nitrito é altamente reativo e potencialmente tóxico para as células. Assim, o NO_2^- gerado pela redução do NO_3^- é imediatamente removido do citosol para os cloroplastos nas folhas ou outro tipo de plastídio nas raízes. Nestas organelas, a Redutase do Nitrito reduz o nitrito para amônio de acordo com a reação:



As folhas e as raízes contêm diferentes formas da enzima, porém, ambas transferem elétrons da ferredoxina para o nitrito. Nas folhas, a ferredoxina reduzida tem origem no transporte de elétrons fotossintético nos cloroplastos e nos tecidos não verdes, a partir do NADPH (gerado na via da Pentose – Fosfato).

A Redutase do Nitrito consiste de um único polipeptídeo com massa molecular de 63 kDa e contém dois grupos prostéticos: um centro Fe-S e um grupo Heme. Os elétrons são transferidos na seqüência mostrada no esquema abaixo (Figura 15)

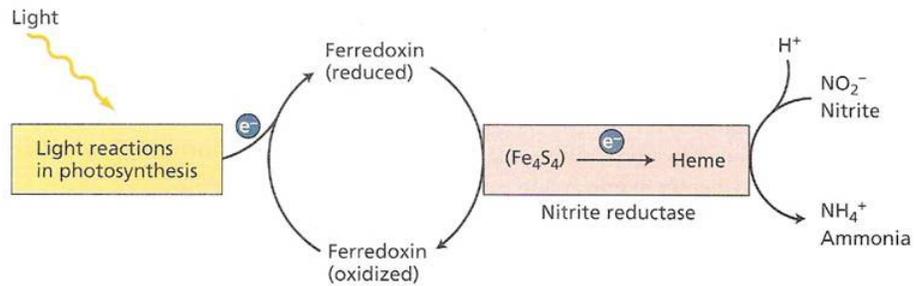
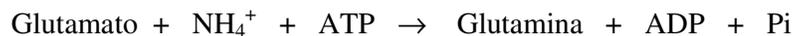


Figura 15 – Modelo ilustrando o fluxo de elétrons fotossintético, via ferredoxina, para a redução do nitrito para amônio (Taiz & Zeiger, 1998)

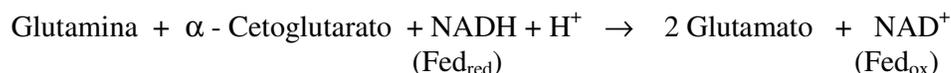
- **Assimilação de Amônio**

As células de plantas evitam a toxicidade de NH_4^+ , inserindo o amônio absorvido e gerado pela redução de nitrato ou pela fotorrespiração, em aminoácidos. Inicialmente, a enzima **sintetase da glutamina** (GS) combina NH_4^+ com o glutamato, na reação:



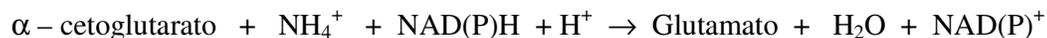
A reação envolve um cátion divalente (Mg^{2+} , Mn^{2+} ou Co^{2+}) como cofator. A GS tem massa molecular de 350 kDa e é composta de oito sub-unidades aproximadamente idênticas. As plantas possuem duas classes de GS, uma no citosol e outra nos plastídios. As formas citosólicas são expressas em sementes germinando ou feixes vasculares de raízes e de parte aérea e produzem glutamina como forma de transporte de nitrogênio. A GS no plastídio da raiz gera amidas para consumo local e a GS do cloroplasto assimila o NH_4^+ liberado na fotorrespiração.

Elevados níveis de glutamina nos plastídios estimula a atividade da **sintase do glutamato**, enzima que é conhecida como GOGAT (glutamina: 2-oxoglutarato amino transferase). A GOGAT transfere o grupo amida da glutamina para o 2-cetoglutarato, produzindo duas moléculas de glutamato.



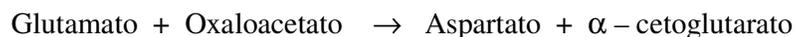
As plantas contêm duas GOGAT, uma recebe elétrons do NADH e a outra da ferredoxina reduzida. A enzima que usa NADH está localizada nos plastídios de tecidos não fotossintéticos, como raízes e feixes vasculares de folhas em desenvolvimento. A GOGAT dependente de ferredoxina é encontrada nas folhas e participa do metabolismo do NH_4^+ produzido na fotorrespiração. As raízes, particularmente aquelas supridas com NO_3^- , possuem, também, uma GOGAT dependente de ferredoxina, a qual participa da incorporação da glutamina gerada durante a assimilação de nitrato.

Alternativamente, o NH_4^+ poderia ser incorporado pela atividade da Desidrogenase do Glutamato (GDH), que catalisa a seguinte reação:



As enzimas GDH – NADH e GDH – NADPH são encontradas nas mitocôndrias e nos cloroplastos, respectivamente. A enzima GDH não parece substituir a passagem GS-GOGAT, pois um inibidor da GS, o composto metionina sulfoximina, bloqueia toda a assimilação de amônio em glutamato e glutamina. Assim, a GDH pode ser mais importante na desaminação do glutamato, ou seja, a reação no sentido inverso.

Uma vez assimilado em glutamato e glutamina, o nitrogênio é incorporado em outros aminoácidos, nas reações de transaminação catalisadas pelas **aminotransferases**. Exemplo: aminotransferase do aspartato (AAT)



As reações de transaminação são encontradas no citosol, cloroplastos, mitocôndrias, glioxissomos e peroxissomos. As aminotransferases dos cloroplastos têm significativo papel na biossíntese de vários aminoácidos (glutamato, aspartato, alanina, serina e glicina).

Uma outra importante enzima é a sintetase da asparagina (AS), a qual catalisa a transferência de um grupo NH_2 da glutamina para o aspartato:



Sob condições de alta disponibilidade de energia (luz e níveis de carboidratos) ocorre aumento da atividade da via GS - GOGAT e inibição da atividade da AS. Isso favorece a assimilação de N nos aminoácidos glutamina e glutamato, compostos ricos em carbono (1N/5C no glutamato e 2N/5C na glutamina) que participam da síntese de novos materiais da planta. Contrariamente, quando a disponibilidade de energia é baixa, ocorre a inibição da via GS – GOGAT e ativação da AS. Nestas condições o N é assimilado preferencialmente em asparagina, um composto relativamente rico em nitrogênio (2N/4C) e suficientemente estável para o transporte à longa distância ou para armazenamento por longos períodos.

Veja as reações de assimilação de amônio na figura 16:

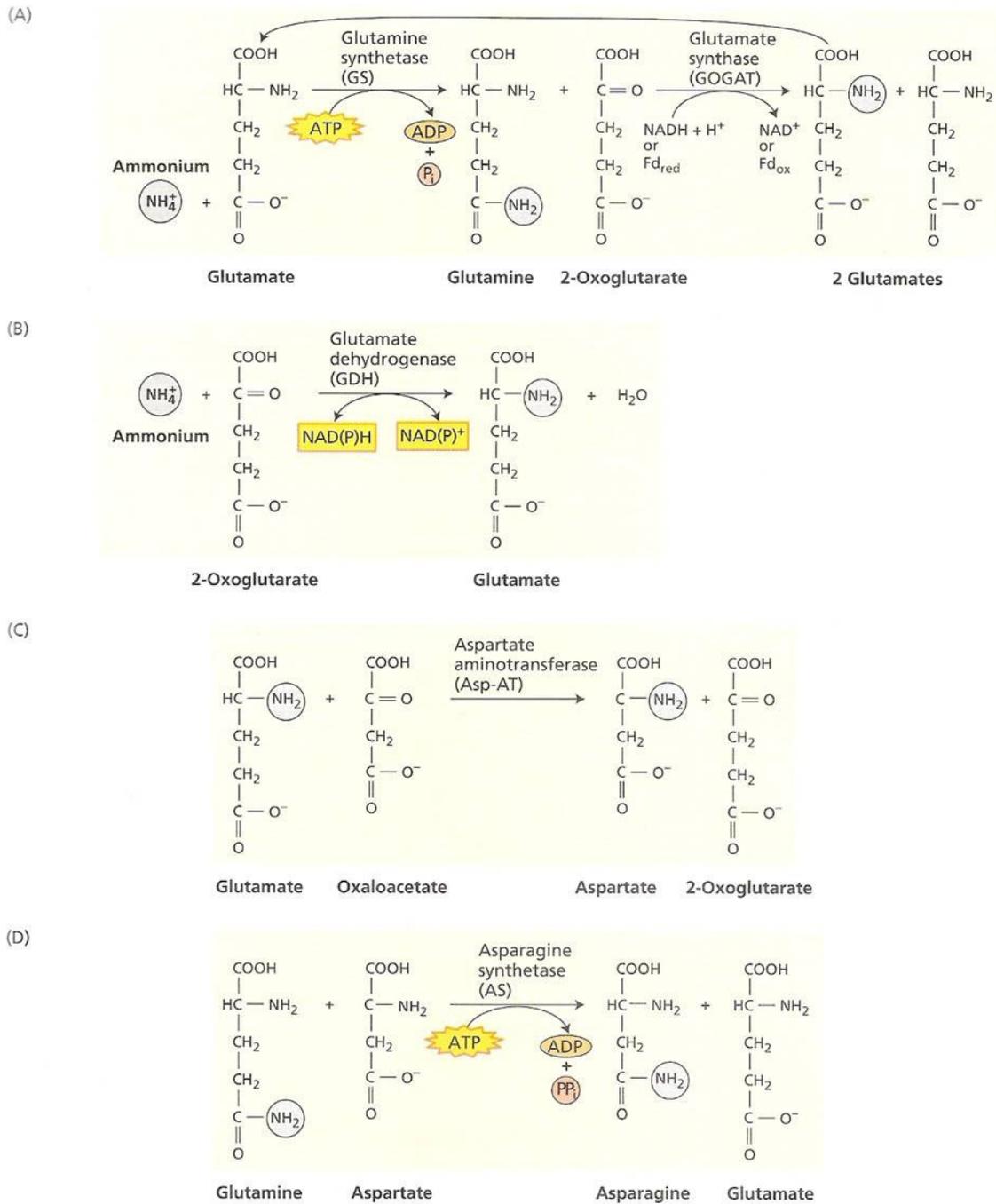


Figura 16 - Estruturas dos compostos e reações envolvidas na assimilação do amônio (Taiz & Zeiger, 1998)

c) Fixação Biológica de Nitrogênio

Na fixação biológica de nitrogênio, o N_2 da atmosfera é convertido para NH_3 , que pode ser posteriormente assimilado em compostos orgânicos. A fixação biológica de nitrogênio pode ser feita por bactéria de vida livre ou bactérias que formam associações com plantas superiores (simbiose). O tipo mais comum de simbiose ocorre entre membros da família *Leguminosae* e bactérias do solo dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, conhecidas como rizóbios. Sob condições limitantes de N, os simbiontes se procuram um ao outro, por meio de uma elaborada troca de sinais.

As reações envolvidas na simbiose leguminosa - rizóbio ocorrem em uma estrutura conhecida como NÓDULO, um órgão especial que se desenvolve nas raízes da planta hospedeira. Abaixo descrevemos, resumidamente, as etapas envolvidas na iniciação e no desenvolvimento do nódulo em raízes de soja (Acompanhar figura 17):

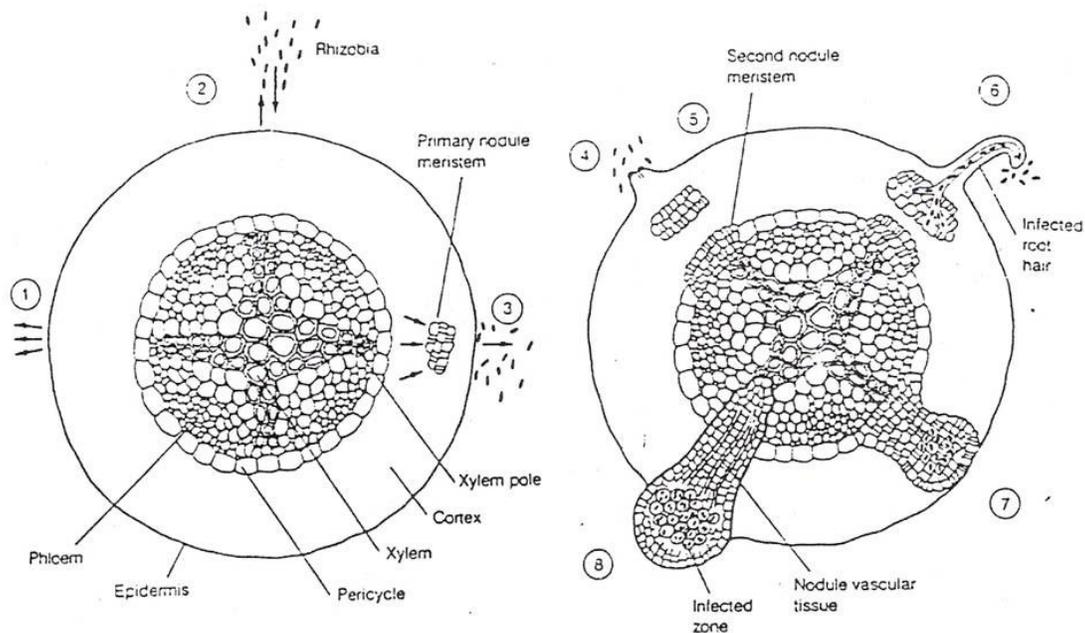


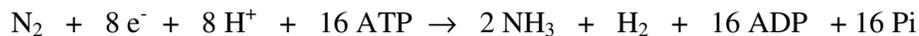
Figura 17 - Estágios dos processos de iniciação (A) e desenvolvimento (B) de nódulos em raízes de soja (Taiz & Zeiger, 1991)

- 1 – As raízes da planta excretam substâncias, principalmente homosserina e flavonóides, os quais agem como atraentes químicos;
- 2 – As substâncias atraem as bactérias para a superfície radicular e estimulam, nas bactérias, a produção dos fatores de nodulação (Nod factors) e a liberação de sinais mitógenos que estimulam a divisão celular; A estrutura da molécula do “Nod Factor” parece determinar a especificidade (espécie de *Rhizobium* com uma espécie de Leguminosae)
- 3 – Em resposta aos fatores de indução de divisão celular produzidos pelos rizóbios, as células do córtex da raiz iniciam a proliferação e produzem o meristema primário do nódulo;
- 4 – As bactérias se aderem aos pêlos radiculares e iniciam o processo de infecção;
- 5 – As células do periciclo, próximas aos pólos do xilema, também são estimuladas à divisão;
- 6 – O cordão de infecção se forma e cresce em direção ao meristema primário do nódulo. Paralelamente, as células no periciclo continuam a divisão;

- 7 – As duas massas de células em divisão (o meristema primário do nódulo e parte do periciclo) se fundem e o cordão de infecção continua a crescer;
- 8 – O nódulo alonga-se e diferencia-se, incluindo as conexões vasculares com o sistema vascular das raízes. Note que os nódulos se desenvolvem próximos aos pólos do xilema, o que facilita as conexões e as transferências de materiais.

Na região infectada, a bactéria continua o processo de divisão, sendo um certo número (3-4) de bactérias circundadas por uma membrana que separa as bactérias do citosol da célula hospedeira. Posteriormente, ocorre uma paralisação no processo de divisão e as bactérias aumentam de tamanho e se diferenciam, produzindo organelas endossimbióticas conhecidas como **bacteróides** (bactérias “maduras” capazes de fixar o N₂). A membrana, referida anteriormente, que separa os bacteróides do citosol da célula hospedeira é denominada de membrana peribacteroidal.

A enzima que catalisa a fixação do N₂ é a **NITROGENASE**, de acordo com a seguinte reação:



O complexo da nitrogenase pode ser separado em dois componentes: uma Fe-Proteína e uma MoFe-Proteína, sendo que nenhum dos dois componentes possui atividade catalítica isoladamente. Na reação de redução, a ferredoxina reduzida serve como doador de elétrons para a Fe-Proteína, a qual hidrolisa ATP e reduz a MoFe-Proteína. Esta última reduz o substrato N₂ para NH₃ e H₂ (Figura 18)

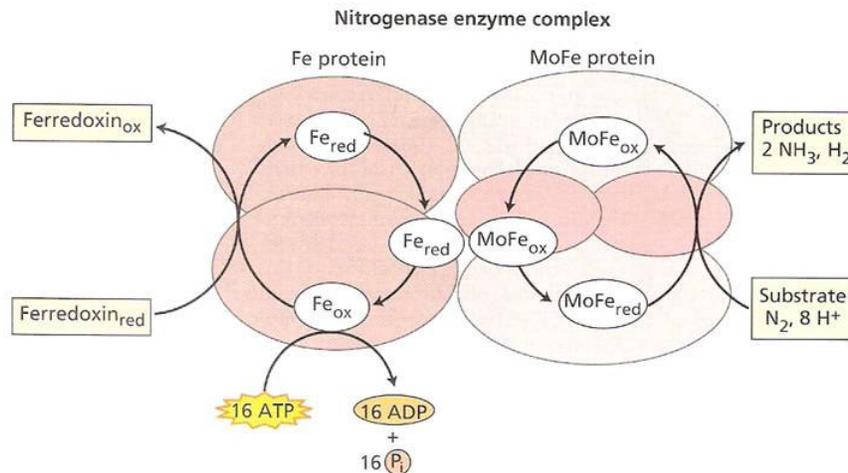


Figura 18 – O fluxo de elétrons e as reações catalisadas pela nitrogenase durante a fixação simbiótica do N₂ (Taiz & Zeiger, 1998)

A nitrogenase pode reduzir um número razoável de substratos (N₂, H⁺, N₂O, N₃⁻, acetileno, ATP). Uma destas reações, a redução do acetileno para etileno, é usada para estimar a atividade da enzima. Sob condições naturais, no entanto, a nitrogenase reage somente com N₂ e H⁺. A redução de H⁺ para H₂ pode representar uma perda considerável de elétrons que poderiam ser utilizados na redução do N₂. Em rizóbios, estima-se que de 30 a

60% da energia suprida para a nitrogenase pode ser perdida como H_2 , diminuindo a eficiência da fixação biológica. Alguns rizóbios, no entanto, contêm uma **HIDROGENASE**, enzima que pode oxidar o H_2 para $2H^+$, regenerando os prótons e elétrons e aumentando a eficiência da fixação.

Um ponto importante a ser considerado é que o oxigênio atua na inativação da enzima nitrogenase, agindo, principalmente, sobre a Fe-Proteína. Assim, o processo de fixação de N_2 deve ocorrer sob condições anaeróbicas. Na simbiose leguminosa–rizóbio, como já comentamos, as reações ocorrem no interior dos nódulos. O nódulo se desenvolve, parte como um sistema vascular que permite a troca do N_2 fixado pelo microorganismo pelos nutrientes fornecidos pela planta e parte como uma camada de células que reduz o influxo de O_2 para o local das reações de fixação (interior do nódulo). Além disso, os nódulos são ricos em uma proteína conhecida como leghemoglobina, a qual contém um grupo Heme que se liga ao oxigênio. A presença dessa proteína é indicada pela cor rósea no interior dos nódulos (a cor rósea pode ser um indicativo de que o nódulo está ativo). Esta leghemoglobina funciona como um transportador de O_2 no nódulo necessário à respiração, sem afetar a atividade da nitrogenase.

O processo de fixação, ou seja, a reação catalisada pela nitrogenase, ocorre dentro de uma organela endossimbiótica conhecida como **bacteróide** (bactéria “madura” capaz de fixar o N_2). Como já comentamos anteriormente, estes bacteróides são encontrados em grupos, os quais são separados de outros grupos de bacteróides e do citosol da célula hospedeira pela membrana peribacteroidal.

O NH_3 gerado dentro do bacteróide, a partir do N_2 , é rapidamente incorporado no glutamato, no citosol da célula hospedeira, por ação da GS, produzindo glutamina. Esta glutamina pode ser transportada para a parte aérea, via xilema, ou pode ser convertida em outros compostos orgânicos. Com base na composição da seiva do xilema, as plantas podem ser divididas em exportadoras de **amidas** e exportadoras de **ureídeos**. As leguminosas de clima temperado (ervilha, vicia, etc.) tendem a exportar amidas (glutamina e asparagina) enquanto as leguminosas tropicais (soja, feijão-de-corda, amendoim) exportam o nitrogênio na forma de ureídeos (Figura 19)

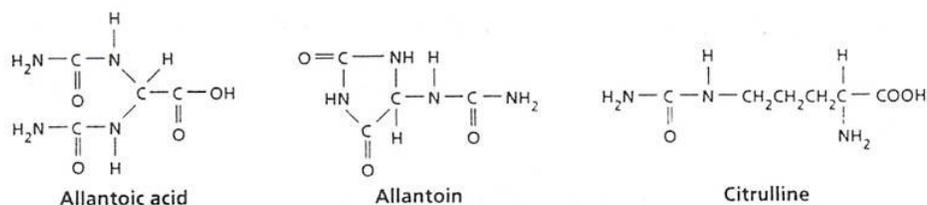


Figura 19 – Estrutura dos principais ureídeos encontrados em plantas que fixam N_2 .

Os principais ureídeos são alantoina, ácido alantóico e citrulina (Figura 19). Como mencionamos anteriormente, a GS incorpora o NH_3 no glutamato, produzindo a glutamina no citosol da célula infectada. A glutamina é, então, convertida para ácido úrico, o qual é translocado para células vizinhas não infectadas (Figura 20). Nestas células, a alantoina é sintetizada nos peroxissomos a partir do ácido úrico e o ácido alantóico é sintetizado a partir da alantoina no retículo endoplasmático. A citrulina é sintetizada a partir da ornitina. Os ureídeos, uma vez na parte aérea, são rapidamente catabolizados e liberam NH_4^+ , o qual é assimilado na rota GS-GOGAT.

A vantagem dos ureídeos está relacionada à eficiência de transporte de nitrogênio para a parte aérea, com grande economia de carbono. Por exemplo, alantoina e ácido alantóico possuem relação 4N/4C e a citrulina 3N/6C. As amidas asparagina e glutamina têm relações de 2N/4C e 2N/5C, respectivamente.

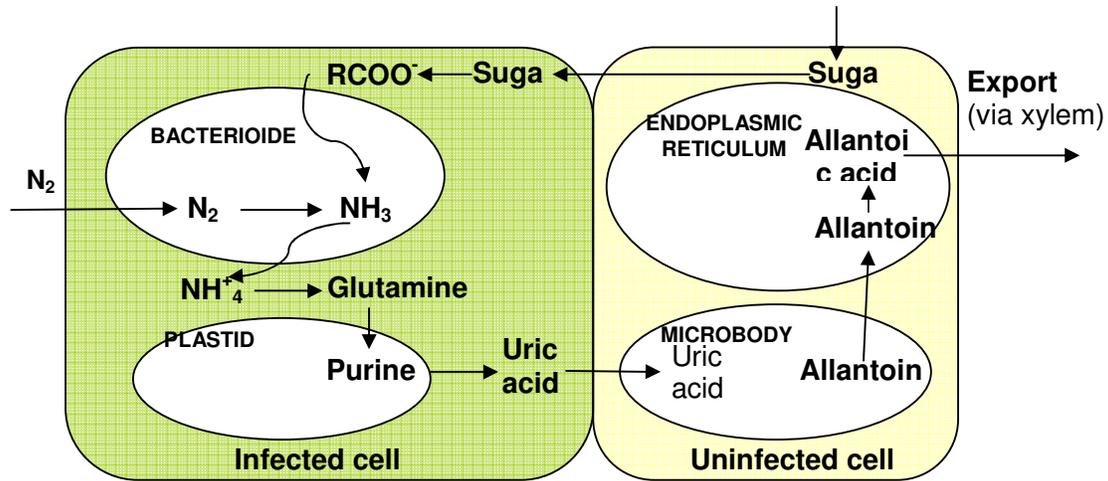


Figura 20 – Esquema geral mostrando a assimilação de N_2 fixado nos nódulos que formam ureídeos (Hopkins, 2000).

BIBLIOGRAFIA

- FERRI, M. G. (Coord.) **Fisiologia Vegetal**, v. 1. 2nd ed. São Paulo: EPU, 1985, 361p.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995, 889p.
- HOPKINS, W. G. **Introduction to Plant Physiology**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000, 512p.
- SALISBURY, F. B., ROSS, C. W. **Plant Physiology**. 4th ed. Califórnia: Wadsworth Publishing Company, Inc., 1991, 682p.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998, 792p.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^a edição. Editora Artmed, 2004, 719p.

ESTUDO DIRIGIDO Nº 03

ASSUNTO: NUTRIÇÃO MINERAL

- 1 – Quais os critérios básicos para caracterizar um elemento essencial?
- 2 – Como se explica ser o cloro um elemento essencial, se o mesmo não entra na composição de nenhum composto orgânico tido como essencial?
- 3 – Explique porque, embora sendo o cobalto necessário à fixação simbiótica de nitrogênio, ele não seja considerado um elemento essencial.
- 4 – Cite o símbolo químico, as formas de absorção e as principais funções dos macro e micronutrientes.
- 5 – Defina transporte ativo e passivo.
- 6 – Cite e caracterize as proteínas transportadoras da membrana celular.
- 7 – Defina simporte e antiporte.
- 8 – Indique como ocorre a absorção de íons e o transporte desde o solo até o xilema radicular.
- 9 – Defina nitrificação. Como ocorre a nitrificação? Quais as vantagens da nitrificação para as bactéria e para os vegetais superiores?
- 10 – Explique como ocorre a redução de nitrato a amônia, caracterizando as respectivas enzimas.
- 11 – Quais as principais enzimas responsáveis pela incorporação do NH_4^+ , produzindo aminoácidos.
- 12 – Classifique os microorganismos responsáveis pela fixação do nitrogênio.
- 13 – Descreva a associação existente entre leguminosas e bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* na fixação simbiótica do nitrogênio.