

UNIDADE IV – NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS - TRANSPORTE DE ÍONS

3. TRANSPORTE DE ÍONS ATRAVÉS DA MEMBRANA

3.1. TRANSPORTE PASSIVO E ATIVO

3.2. MECANISMOS DE TRANSPORTE DE ÍONS ATRAVÉS DA MEMBRANA CELULAR

3.3. ANÁLISE CINÉTICA DO TRANSPORTE

3. Transporte de íons através da membrana

A difusão de moléculas 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 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.

3.1. Transporte passivo e ativo

O movimento de solutos através de membranas biológicas, pode ocorrer por:

- **TRANSPORTE PASSIVO:** que ocorre a favor do gradiente de potencial químico ou eletroquímico.
- **TRANSPORTE ATIVO:** que ocorre contra o gradiente de potencial químico ou eletroquímico.

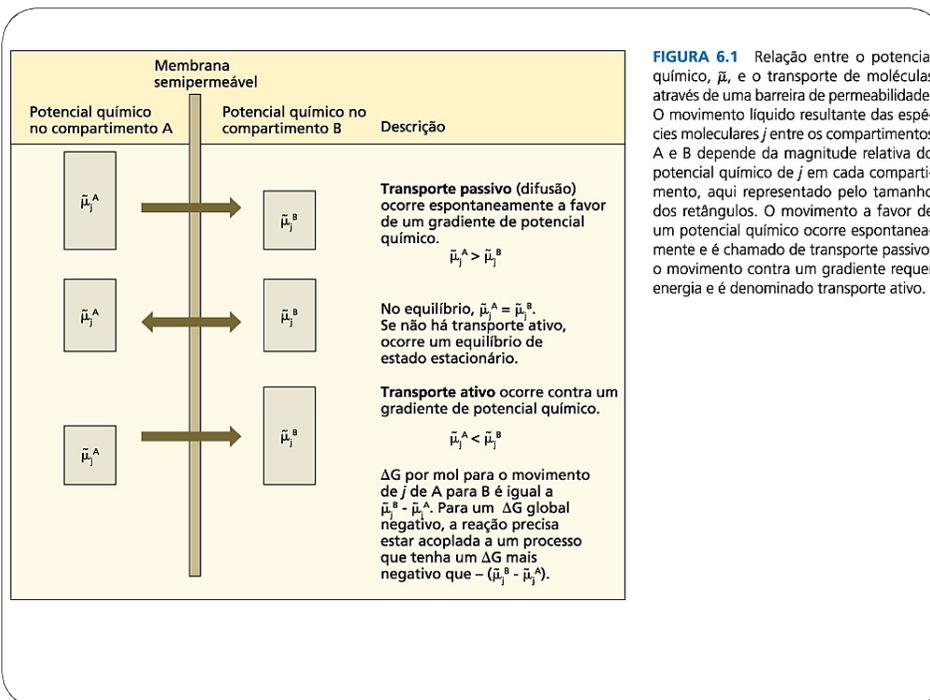


FIGURA 6.1 Relação entre o potencial químico, $\bar{\mu}$, e o transporte de moléculas através de uma barreira de permeabilidade. O movimento líquido resultante das espécies moleculares j entre os compartimentos A e B depende da magnitude relativa do potencial químico de j em cada compartimento, aqui representado pelo tamanho dos retângulos. O movimento a favor de um potencial químico ocorre espontaneamente e é chamado de transporte passivo; o movimento contra um gradiente requer energia e é denominado transporte ativo.

POTENCIAL QUÍMICO

O potencial químico para qualquer soluto é definido como:

$$\tilde{\mu}_j = \mu_j^* + RT \ln C_j$$

Chemical potential for a given solute, j	=	Chemical potential of j under standard conditions	+	Concentration (activity) component
--	---	---	---	------------------------------------

Condições padrão:

pH = 7,0

T = 25 °C

Conc. = 1 M

Transporte de soluto não iônico para a célula

Célula

$$\mu_s^d = \mu_s^* + RT \ln C_s^d$$

Solução

$$\mu_s^f = \mu_s^* + RT \ln C_s^f$$

$$\Delta\mu_s = \mu_s^d - \mu_s^f$$

$$\Delta\mu_s = (\mu_s^* + RT \ln C_s^d) - (\mu_s^* + RT \ln C_s^f)$$

$$\Delta\mu_s = RT (\ln C_s^d - \ln C_s^f) = RT \ln C_s^d / C_s^f$$

$$\Delta\mu_s = 2,3RT \log C_s^d / C_s^f$$

$\Delta\mu_s \rightarrow$ Gradiente de potencial químico

Transporte de soluto iônico para a célula

Célula

$$\mu_I^d = \mu_I^* + RT \ln C_I^d + z_I F E^d$$

Solução

$$\mu_I^f = \mu_I^* + RT \ln C_I^f + z_I F E^f$$

$$\Delta\mu_I = \mu_I^d - \mu_I^f$$

$$\Delta\mu_I = (\mu_I^* + RT \ln C_I^d + z_I F E^d) - (\mu_I^* + RT \ln C_I^f + z_I F E^f)$$

$$\Delta\mu_I = RT \ln C_I^d - RT \ln C_I^f + z_I F E^d - z_I F E^f$$

$$\Delta\mu_I = RT \ln C_I^d / C_I^f + z_I F (E^d - E^f)$$

$$\Delta\mu_I = 2,3RT \log C_I^d / C_I^f + z_I F (E^d - E^f)$$

$\Delta\mu_I \rightarrow$ Gradiente de potencial eletroquímico

Adição de KCl:

K⁺ e Cl⁻ se difundem independentemente.

Para o K⁺: ($z_K = +1$)

$$\Delta\mu_K = \mu_K^d - \mu_K^f$$

$$\Delta\mu_K = (\mu_K^* + RT \ln C_K^d + z_K F E^d) - (\mu_K^* + RT \ln C_K^f + z_K F E^f)$$

$$\Delta\mu_K = 2,3RT \log C_K^d / C_K^f + F (E^d - E^f)$$

Para o Cl⁻: ($z_{Cl} = -1$)

$$\Delta\mu_{Cl} = 2,3RT \log C_{Cl}^d / C_{Cl}^f - F (E^d - E^f)$$

A força responsável pelo movimento de íons ($\Delta\mu_I$), depende:

1. Da diferença de concentração (C_{Cl}^d / C_{Cl}^f);
2. Da diferença de potencial elétrico através da membrana ($E^d - E^f$)

EQUAÇÃO DE NERNST (ΔE_n)

No equilíbrio: **Fluxo_I d \rightarrow f = Fluxo_I f \rightarrow d**

$$e \quad \mu_I^d = \mu_I^f$$

Ou seja: $\Delta\mu_I = 0$

$$RT \ln C_I^d + z_I F E^d = RT \ln C_I^f + z_I F E^f$$

Arranjando-se a equação, têm-se:

$$E^d - E^f = RT/z_I F (\ln C_I^f / C_I^d), \text{ ou:}$$

$\Delta E_n = 2,3RT/z_I F (\log C_I^f / C_I^d)$	Potencial de Nernst
---	---------------------

A 25 °C, tem-se, para C^{+1} :

$$\Delta E_n = 59 \text{ mV } \log C_I^f / C_I^d \quad \rightarrow$$

$$RT \ln C_I^d + z_I F E^d = RT \ln C_I^f + z_I F E^f$$

$$z_I F E^d - z_I F E^f = RT \ln C_I^f - RT \ln C_I^d$$

$$z_I F (E^d - E^f) = RT (\ln C_I^f - \ln C_I^d)$$

$$(E^d - E^f) = RT/z_I F (\ln C_I^f - \ln C_I^d)$$

3.2. Mecanismos de transporte de íons através da membrana celular

O principal objetivo de se estudar a estrutura da membrana através de métodos químicos, físicos e ultraestruturais (microscópio eletrônico) é o de entender-se como as membranas controlam o movimento de solutos.

Os estudos iniciais sobre as propriedades das membranas baseavam-se na habilidade das membranas de possuírem permeabilidade diferencial utilizando-se metodologia com base na propriedade de plasmólise – desplasmólise (demonstrada por de Vries, em 1877 e utilizada por Collander e outros entre as décadas de 1930-1950).

O uso de membranas artificiais lipídicas também ajudou bastante para que se entendesse melhor como os solutos atravessam as membranas.

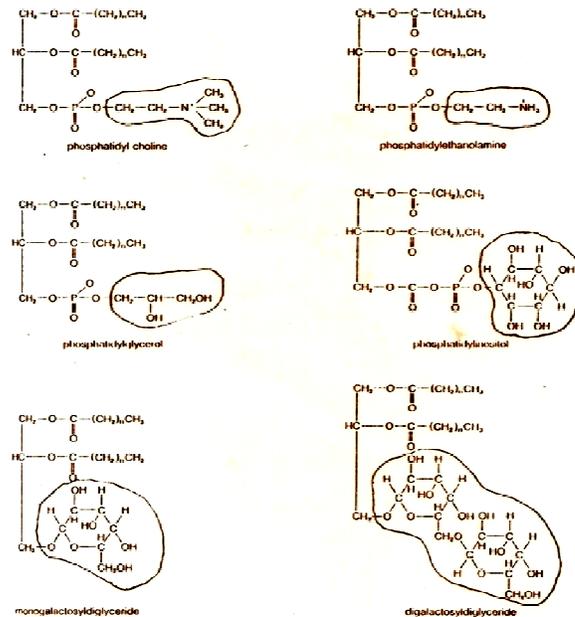
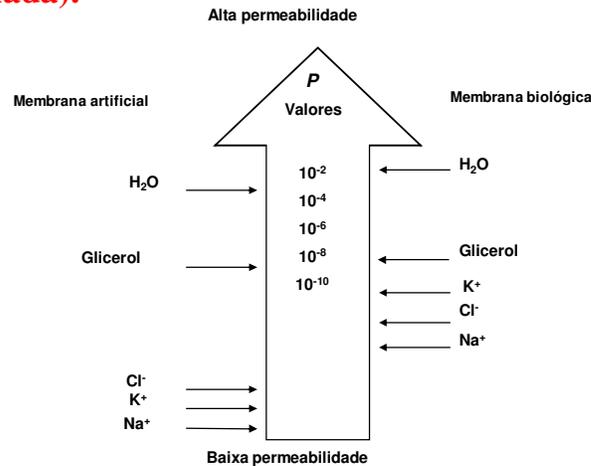
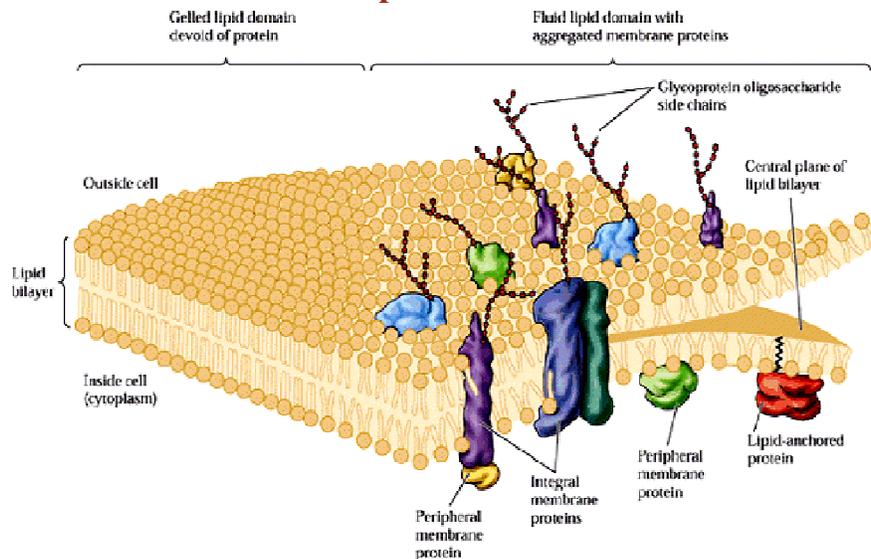


Figure 8-12 Structures of abundant membrane phospholipids and glycolipids. The subscript n in fatty acids represents a variable number of CH_2 groups or groups containing unsaturated carbons (usually 14 or 16).

Valores típicos de permeabilidade (cm s^{-1}) de membranas biológicas para várias substâncias comparados com aqueles de uma membrana artificial de fosfolipídios (bicamada).



Estes estudos, associados aos dados obtidos através da microscopia eletrônica redundaram no estabelecimento do modelo do mosaico fluido para a estrutura da membrana.



Por que isto acontece?

As membranas biológicas possuem proteínas transportadoras (**Bombas, Carreadores e Canais**) que facilitam a passagem de íons e de outras moléculas.

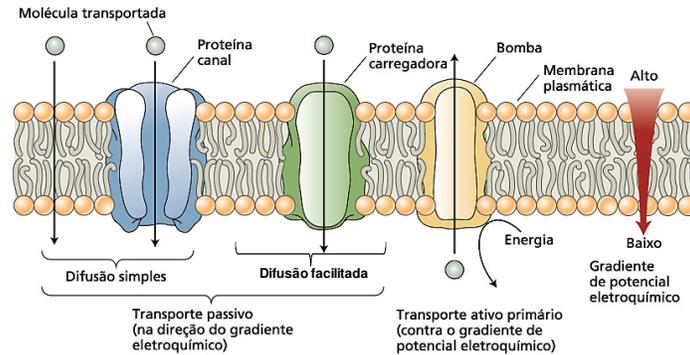


FIGURA 6.7 Três classes de proteínas de transporte em membranas: canais, carregadores e bombas. Os canais e os carregadores podem mediar o transporte passivo de um soluto através das membranas (por difusão simples ou difusão facilitada) a favor do gradiente de potencial eletroquímico do soluto. As proteínas canais atuam como poros de membrana, e a sua especificidade é determinada principalmente pelas propriedades biofísicas do canal. As

proteínas carregadoras se ligam a molécula transportada em um lado da membrana e a liberam do outro lado (os diferentes tipos de proteínas carregadoras são descritos com mais detalhes na Figura 6.11). O transporte ativo primário é feito por bombas e emprega energia diretamente, em geral a partir da hidrólise de ATP, para bombear solutos contra seu gradiente de potencial eletroquímico.

Características dos transportadores proteicos

	Canal	Carreador	Bomba
Especificidade	-Densidade de cargas; -Tamanho do poro;	Por um soluto ou um grupo de solutos relacionados.	Por um soluto ou um grupo de solutos relacionados.
Processo vetorial	Sim	Sim	Sim
Processo escalar	Não	Não	Sim
Mudança de conformação	Não	Sim	Sim
Velocidade (Turnover) (molécula/seg)	10^6 a 10^8	10^3	10^2

Como toda membrana celular exibe uma diferença de potencial elétrico devido a assimetria de distribuição iônica entre o exterior e o interior da célula, pode-se determinar isto inserindo-se um microeletrodo dentro da célula (ou tecido) e outro na solução.

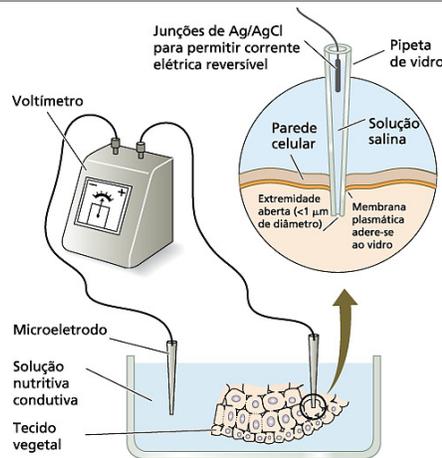


FIGURA 6.3 Diagrama de um par de microeletrodos usado para medir potenciais de membrana através de membranas celulares. Um dos eletrodos de micropipeta de vidro é inserido no compartimento celular em estudo (normalmente o vacúolo ou o citoplasma), enquanto o outro é mantido em solução eletrolítica que serve como referência. Os microeletrodos são conectados a um voltímetro, que mede a diferença de potencial elétrico entre o compartimento celular e a solução. Potenciais de membrana típicos através das membranas celulares vegetais variam de -60 a -240 mV. O detalhe mostra como o contato elétrico do interior da célula é feito por uma extremidade aberta da micropipeta de vidro, a qual contém uma solução salina eletricamente condutora.

TABLE 6.1
Comparison of observed and predicted ion concentrations in pea root tissue

Ion	Concentration in external medium (mmol L ⁻¹)	Internal concentration (mmol L ⁻¹)	
		Predicted	Observed
K ⁺	1	74	75
Na ⁺	1	74	8
Mg ²⁺	0.25	1340	3
Ca ²⁺	1	5360	2
NO ₃ ⁻	2	0.0272	28
Cl ⁻	1	0.0136	7
H ₂ PO ₄ ⁻	1	0.0136	21
SO ₄ ²⁻	0.25	0.00005	19

Source: Data from Higinbotham et al. 1967.

Note: The membrane potential was measured as -110 mV.

$$\Delta E_n = 59 \text{ mV } \log C_I^f / C_I^d$$

1. [OBS] = [PREV] ⇒ Absorvido passivamente;
2. [OBS] < [PREV] ⇒ Absorvidos passivamente, mas excluídos ativamente;
3. [OBS] > [PREV] ⇒ Absorvidos ativamente.

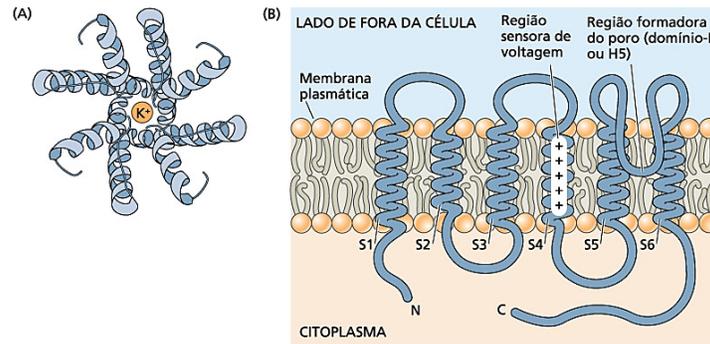


FIGURA 6.8 Modelos de canais de K^+ em plantas. (A) Visão de cima de um canal, olhando pelo poro da proteína. Hélices transmembranas de quatro subunidades juntam-se em uma forma de oca invertida com o poro no centro. As regiões formadoras do poro das quatro subunidades aprofundam-se para dentro da membrana, formando uma região saliente (semelhante a um dedo) seletiva ao K^+ na parte externa do poro (mais detalhes sobre a estrutura deste

canal podem ser encontrados no [Ensaio 6.1 na internet](#)).

(B) Visão lateral de um canal retificador de influxo de K^+ , mostrando a cadeia polipeptídica de uma subunidade, com seis hélices transmembranas (S1–S6). A quarta hélice contém aminoácidos carregados positivamente e atua como um sensor de voltagem. A região formadora do poro é uma alça entre as hélices 5 e 6 (A, segundo Leng et al., 2002; B, segundo Buchanan et al., 2000).

Os canais podem ser controlados por vários sinais, dentre eles, têm-se: variações em E_m , $[K^+]$, $[Ca^{2+}]$, pH, atividades de fosfatases e de proteínas quinases, hormonais e luz.

Transporte ativo primário eletrogênico

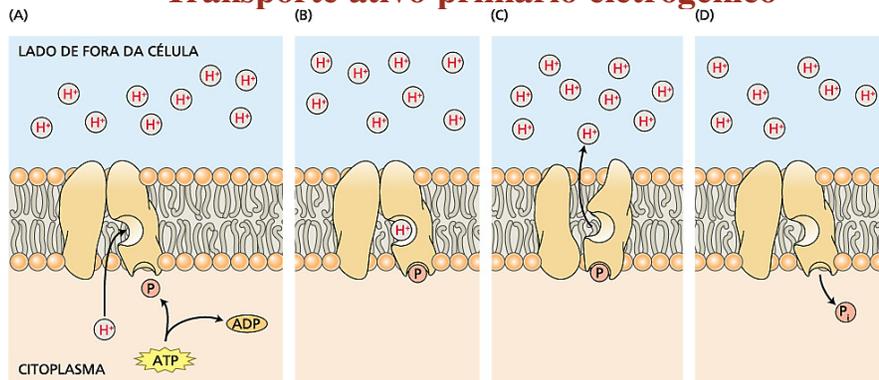


FIGURA 6.16 Etapas hipotéticas no transporte de um próton contra seu gradiente químico por uma H^+ -ATPase. A bomba, inserida na membrana, liga-se ao próton no lado de dentro da célula (A) e é fosforilada por ATP (B). Essa fosforilação conduz a uma mudança de conformação que expõe o próton ao lado de fora da célula e possibilita a sua difusão para longe (C). A liberação do íon fosfato (P) da bomba para o citosol (D) restabelece a configuração inicial da H^+ -ATPase e permite que comece um novo ciclo de bombeamento.

Quando um íon entra ou sai de uma célula há um desbalanceamento de cargas modificando o ΔE_m , ou seja, gera-se uma força eletromotriz. Portanto, este tipo de movimento é ELETROGÊNICO.

Este processo é ATIVO, requerendo energia, a qual provém da hidrólise, geralmente, do ATP, portanto primário.

Além da bomba eletrogênica H^+ -ATPase de membrana plasmática, há a H^+ -ATPase vacuolar e a H^+ -pirofosfatase que bombeiam prótons eletrogenicamente para o vacúolo e para a cisterna do complexo de Golgi e a Ca^{2+} -ATPase de membrana plasmática e de endomembranas que bombeiam Ca^{2+} para fora do citosol, mantendo a $[Ca^{2+}]$ no citosol baixa.

Uma consequência importante do transporte ativo primário eletrogênico é a de permitir que no citosol ocorra $[H^+]$, $[Na^+]$, $[K^+]$ e $[Ca^{2+}]$ compatíveis com as necessidades metabólicas da célula.

Em animais, existe uma bomba eletroneutra, a H^+/K^+ - ATPase de mucosa gástrica. A $3Na^+/2K^+$ -ATPase de células de animais é eletrogênica.

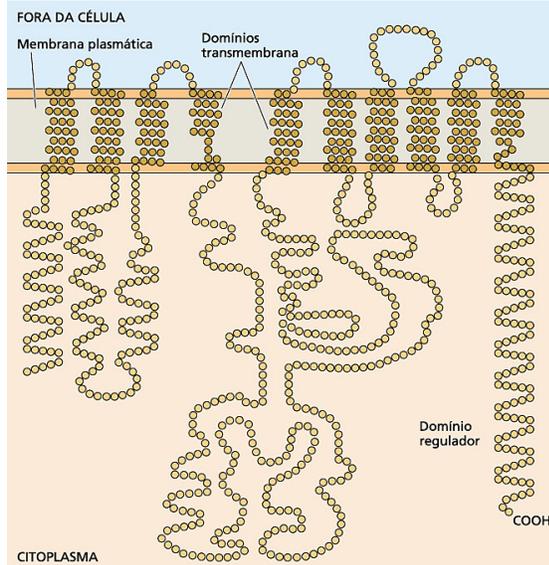


FIGURA 6.17 Representação bidimensional de uma H^+ -ATPase da membrana plasmática de levedura. A proteína H^+ -ATPase possui 10 segmentos transmembrana. O domínio regulador é um domínio autoinibitório. Modificações pós-tradução que levam ao deslocamento do domínio autoinibitório resultam na ativação da H^+ -ATPase (segundo Palmgren, 2001).

A H^+ -ATPase de membrana plasmática é inibida por vanadato (HVO_4^{2-}), um análogo do fosfato (HPO_4^{2-}).

Modelo do motor rotatório da V-H⁺-ATPase.

A V-H⁺-ATPase é inibida por nitrato e o antibiótico bafilomicina. Sendo insensível ao vanadato.

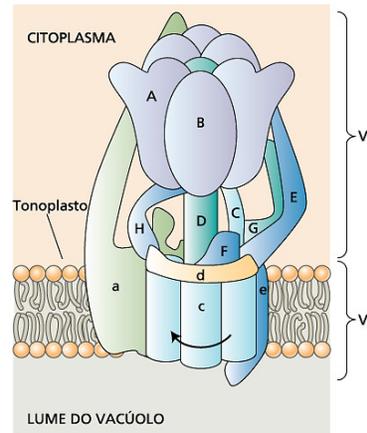


FIGURA 6.18 Modelo do motor de rotação da V-ATPase. Muitas subunidades de polipeptídeos se unem para formar esta enzima complexa. O complexo catalítico V₁, o qual é facilmente dissociado da membrana, contém os sítios de ligação de nucleotídeos e catalítico. Os componentes de V₁ são designados por letras maiúsculas. O complexo integral de membrana que medeia o transporte de H⁺ é designado V₀, e suas subunidades são designadas por letras minúsculas. Propõe-se que as reações da ATPase catalisadas por cada uma das subunidades A, atuando em sequência, governem a rotação do eixo (D) e das seis subunidades c. Acredita-se que a rotação das subunidades c em relação à subunidade D governe o transporte de H⁺ através da membrana (segundo Kluge et al., 2003).

TABELA 6.2 O pH vacuolar de algumas espécies vegetais hiperacidificantes

Tecido	Espécie	pH ^a
Frutos	Lima (<i>Citrus aurantifolia</i>)	1,7
	Limão (<i>Citrus limonia</i>)	2,5
	Cereja (<i>Prunus cerasus</i>)	2,5
	Pomelo (<i>Citrus paradisi</i>)	3,0
Folhas	Begônia de cera (<i>Begonia semperflorens</i>)	1,5
	Begônia "Lucerna"	0,9-1,4
	<i>Oxalis</i> sp.	1,9-2,6
	Azeda (<i>Rumex</i> sp.)	2,6
	Opúncia (<i>Opuntia phaeacantha</i>) ^b	1,4 (6:45 AM) 5,5 (4:00 PM)

Fonte: Small, 1946.

^aOs valores representam o pH do ou da seiva espremida de cada tecido, normalmente um bom indicador do pH vacuolar.

^bO pH vacuolar do cacto *Opuntia phaeacantha* varia com a hora do dia. Muitas suculentas do deserto têm um tipo especializado de fotossíntese, denominado metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), que faz o pH do vacúolo decrescer durante a noite.

Em limão, o baixo pH é mantido devido: À baixa permeabilidade do tonoplasto a prótons, à uma V-H⁺-ATPase especializada e ao acúmulo de ácidos orgânicos (cítrico, málico e oxálico que atuam como tampões).

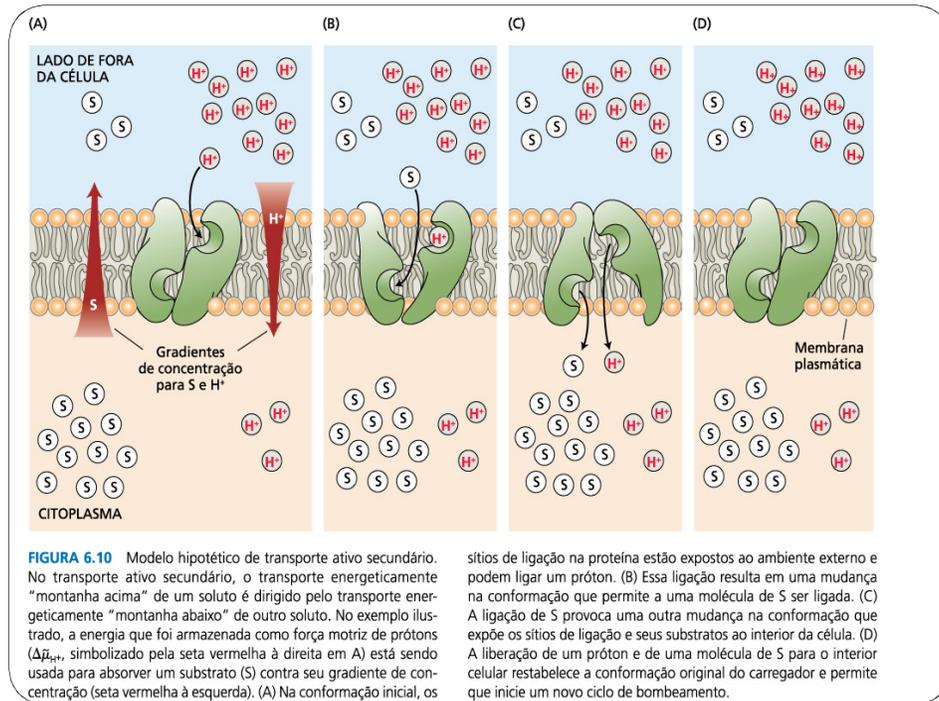


FIGURA 6.10 Modelo hipotético de transporte ativo secundário. No transporte ativo secundário, o transporte energeticamente "montanha acima" de um soluto é dirigido pelo transporte energeticamente "montanha abaixo" de outro soluto. No exemplo ilustrado, a energia que foi armazenada como força motriz de prótons (Δμ_{H⁺}, simbolizado pela seta vermelha à direita em A) está sendo usada para absorver um substrato (S) contra seu gradiente de concentração (seta vermelha à esquerda). (A) Na conformação inicial, os

sítios de ligação na proteína estão expostos ao ambiente externo e podem ligar um próton. (B) Essa ligação resulta em uma mudança na conformação que permite a uma molécula de S ser ligada. (C) A ligação de S provoca uma outra mudança na conformação que expõe os sítios de ligação e seus substratos ao interior da célula. (D) A liberação de um próton e de uma molécula de S para o interior celular restabelece a conformação original do carregador e permite que inicie um novo ciclo de bombeamento.

O transporte ativo secundário ou cotransporte utiliza a energia armazenada em gradientes de potencial eletroquímico sob a forma de força motriz de prótons (Δp).

$$\Delta\mu_{H^+}/F = \Delta p = \Delta E + 59\Delta pH$$

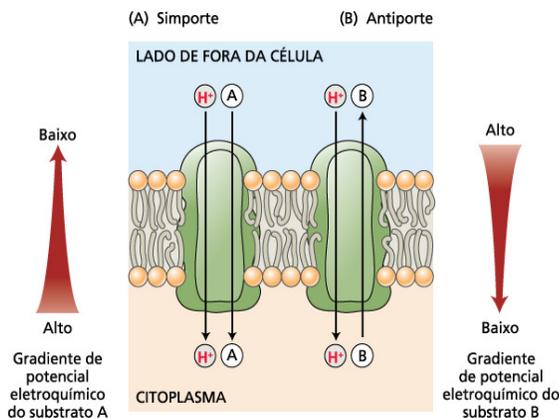


FIGURA 6.11 Dois exemplos de transporte ativo secundário acoplados a um gradiente primário de prótons. (A) No simporte, a energia dissipada por um próton movendo-se de volta para dentro da célula é acoplada à absorção de uma molécula de um substrato (p. ex., um açúcar) para dentro da célula. (B) No antiporte, a energia dissipada por um próton movendo-se de volta para dentro da célula é acoplada ao transporte ativo de um substrato (p. ex., um íon sódio) para fora da célula. Em ambos os casos, o substrato considerado está se movendo contra seu gradiente de potencial eletroquímico. Tanto substratos neutros quanto com carga podem ser transportados por esses processos de transporte ativo secundário.

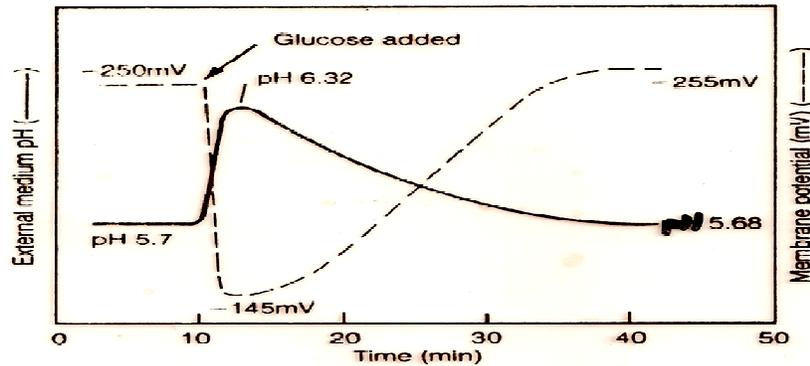
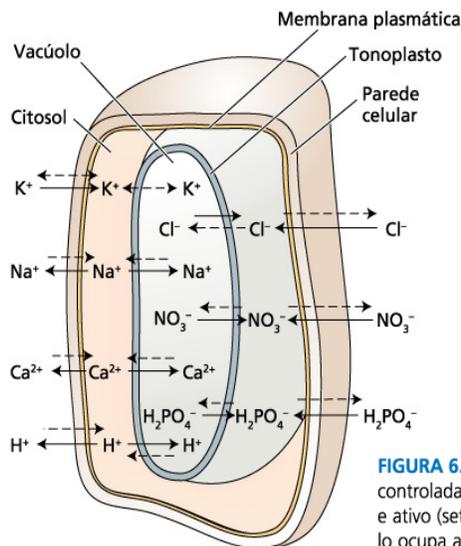


FIGURE 6.12. Evidence for a glucose/proton symport is shown by simultaneous measurements of the pH of the medium bathing the surface of the aquatic plant duckweed (*Lemna gibba*) and the membrane potential of one cell. The early portions of the curves show steady values of pH and membrane potential, conditions that change when 50 mM glucose is added to the solution. The observed increase in pH indicates that protons are disappearing from the medium at the same time that the membrane potential of the cell is decreasing. These observations are predicted by a glucose/proton symport if glucose is cotransported with a proton into the cell. With time, an increase in pump activity results in restoration of the initial pH and membrane potential values. (Adapted from Novacky et al. 1980.)



O controle das concentrações iônicas no citosol é importante para a regulação das enzimas metabólicas.

FIGURA 6.4 As concentrações iônicas no citosol e no vacúolo são controladas por processos de transporte passivo (setas tracejadas) e ativo (setas contínuas). Na maioria das células vegetais, o vacúolo ocupa até 90% do volume celular e contém a maior fração dos solutos celulares. O controle das concentrações iônicas no citosol é importante para a regulação das enzimas metabólicas. A parede celular que circunda a membrana plasmática não representa uma barreira de permeabilidade e, portanto, não é um fator a considerar no transporte de solutos.

**Panorama geral
dos vários
processos de
transporte na
membrana
plasmática e
tonoplasto de
células vegetais.**

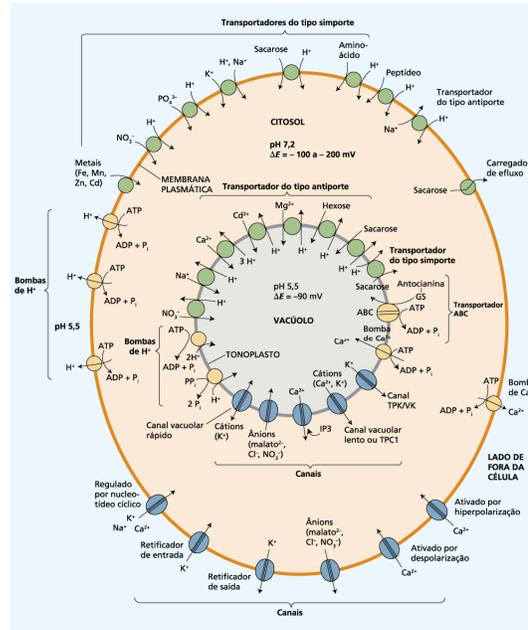


FIGURA 6.14 Panorama geral das diversas proteínas de transporte na membrana plasmática e tonoplasto de células vegetais.*
* N. de T. TPC (two-pore domain channel).

Análise cinética do transporte

Para uma reação enzimática, têm-se:



onde:

E – enzima;

S – substrato;

P – produto; e

[ES] – complexo enzima-substrato.

Tratando-se do processo de absorção de sais por bombas e carreadores, têm-se:



Onde:

M_{ex} – íon no exterior da célula;

M_{in} – íon no interior da célula;

$[MT]$ – complexo íon-transportador (difusível através da membrana);

T – transportador;

T_1 – precursor do transportador.

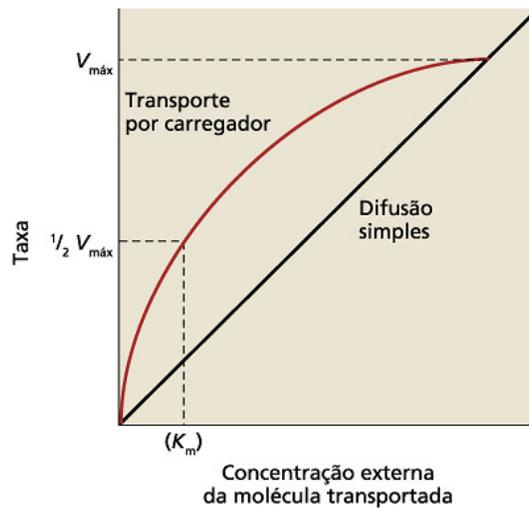


FIGURA 6.12 O transporte por carreador frequentemente apresenta cinética enzimática, incluindo saturação ($V_{\text{máx}}$) (ver Apêndice 1). Em contraste, a difusão simples por meio de canais abertos é, diretamente proporcional à concentração do soluto transportado, ou, para um íon, à diferença de potencial eletroquímico através da membrana.

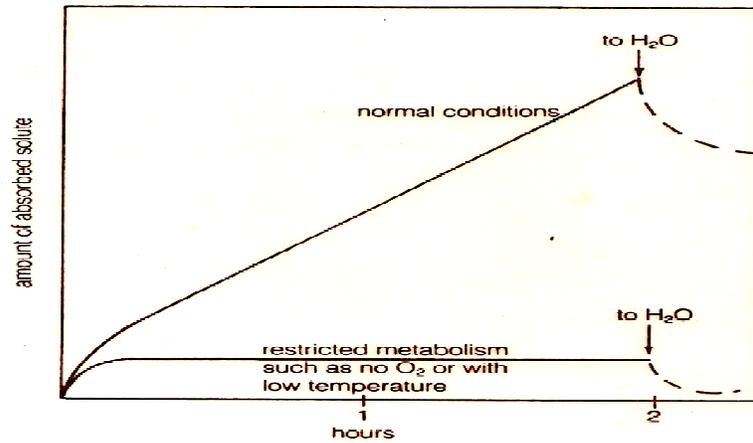


Figure 6-16 Progress of ion uptake with time under various conditions.

As propriedades de transporte de um soluto podem mudar a diferentes concentrações do soluto.

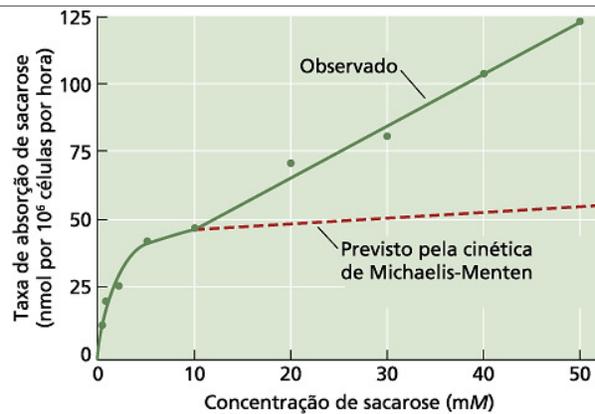
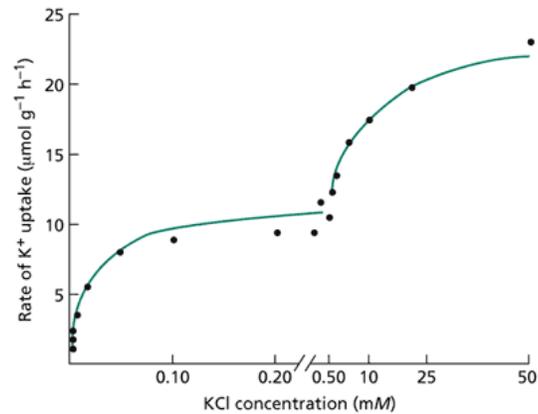


FIGURA 6.13 As propriedades de transporte de um soluto podem mudar com as concentrações do soluto. Por exemplo, em concentrações baixas (1 – 10 mM), a taxa de absorção de sacarose por células de soja mostra cinética de saturação típica de carregadores. Prevê-se que uma curva ajustada a esses dados aproxime-se de uma taxa máxima ($V_{máx}$) de 57 nmol por 10^6 células por hora. Em vez disso, em concentrações mais altas de sacarose, a taxa de absorção continua a aumentar linearmente, ao longo de uma ampla faixa de concentrações, consistente com a existência de mecanismos de transporte facilitado para a absorção de sacarose (segundo Lin et al., 1984).



O transporte de K⁺ em raízes de cevada mostra duas fases diferentes. A cinética bifásica de absorção de K⁺, acentuada nesta figura pela mudança de escala em torno de 1 mM, sugere a presença de dois diferentes tipos de sistemas de transporte para o K⁺. O sistema de alta afinidade, tendo um Km de 0,02 a 0,03 mM, é atribuído ao transporte ativo do tipo simporte; o sistema de baixa afinidade (que pode ou não mostrar saturação) é atribuído à difusão através de canal (Epstein, 1972).

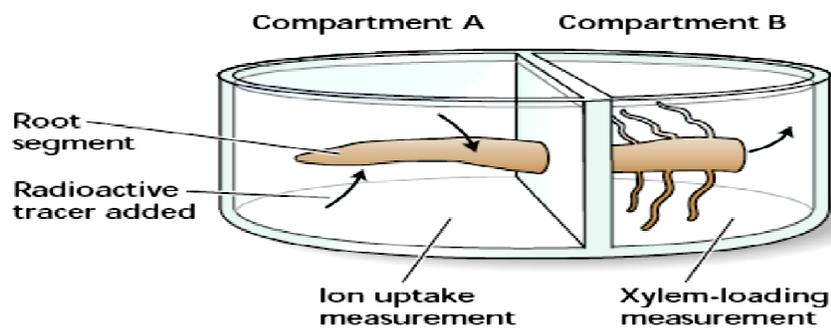


FIGURE 6.19 We can measure the relationship between ion uptake into the root and xylem loading by placing a root segment across two compartments and adding a radioactive tracer to one of them (in this case compartment A). The rate of disappearance of the tracer from compartment A gives a measure of ion uptake, and the rate of appearance in compartment B provides a measurement of xylem loading. (From Lüttge and Higinbotham 1979.)

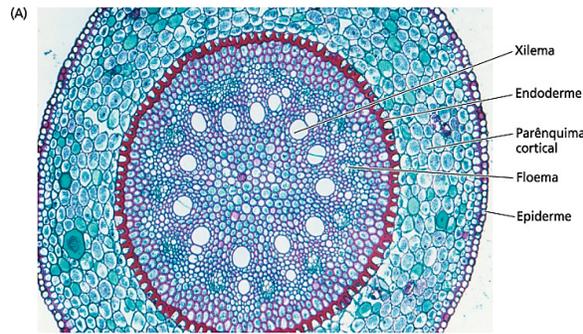


FIGURA 6.20 Organização de tecidos em raízes. (A) Secção transversal de uma raiz de uma monocotiledônea do gênero *Smilax*, mostrando a epiderme, parênquima cortical, endoderme, xilema e floema. (B) Diagrama esquemático de uma secção transversal de raiz, ilustrando as camadas de células pelas quais os solutos passam da solução do solo para os elementos traqueais (A x 30, ©Biodisc/Visuals Unlimited/Alamy; B, segundo Dunlop & Bowling, 1971).

