

APONTAMENTOS DE FISILOGIA VEGETAL

Nutrição Mineral EM PLANTAS VASCULARES



Alexandra Rosa da Costa



Escola de Ciências e Tecnologia

Universidade de Évora
Novembro de 2014

Ficha Técnica

Título: Nutrição Mineral de Plantas Vasculares

Autor: Alexandra Rosa da Costa

Edição: Escola de Ciências e Tecnologia da Universidade de Évora

Data de edição: Novembro de 2014

ISBN: **978-989-97060-9-5**

Notas prévias

1. Este trabalho é uma colectânea de apontamentos, sem pretensões a trabalho de revisão bibliográfica sobre o tema. Apenas se foram coligindo e modernizando os apontamentos para as aulas ao longo dos anos de ensino. Assim, por vezes é uma mera tradução de partes de livros, mas que se espera ser útil a alunos de língua portuguesa.
2. O trabalho foi paginado para ser impresso em frente e verso, com margens espelhadas.
3. Para poder melhorar, agradeço que o eventual leitor me envie as suas críticas, sugestões e correcções de erros que possa detectar para:

arc@uevora.pt

ÍNDICE

	<u>Página</u>
Notas prévias	iii
1ª PARTE: OS NUTRIENTES MINERAIS	1
1. Introdução	1
1.1. As fontes de nutrientes	2
1.2. Breve historial do estudo da nutrição mineral	3
1.3. Culturas hidropónicas	5
2. Os elementos essenciais	8
2.1. Os elementos essenciais existentes nos tecidos	8
2.2. Critérios de essencialidade	9
2.3. Os elementos benéficos	12
3. As funções principais dos nutrientes minerais	12
4. As concentrações de nutrientes nos tecidos	16
5. Stresses derivados da nutrição mineral	19
5.1. Deficiências em nutrientes minerais	19
5.2. Excessos de nutrientes minerais	22
5.3. Metais pesados, metais de transição e alumínio	23
6. A absorção de sais minerais pelas raízes	25
6.1. As raízes enquanto locais de absorção de nutrientes	25
6.1.1. O sistema radicular das plantas	25
6.1.2. A estrutura das raízes	27
6.1.3. A absorção desigual dos nutrientes ao longo da raiz	32
6.1.4. A disponibilidade em nutrientes e a razão raiz:parte aérea	32
6.2. O movimento dos iões para o interior da raiz	33
6.2.1. O movimento dos nutrientes no solo	33
6.2.2. O movimento do solo para o interior da rizoderme	34
6.2.3. O movimento da rizoderme para o interior do xilema	36
6.3. O transporte axial de nutrientes	40
6.4. Os factores que afectam a absorção dos nutrientes	41
6.4.1. A fotossíntese	41
6.4.2. A respiração	41
6.4.3. O potencial hídrico (Ψ_w) do solo	42
6.4.4. A disponibilidade em nutrientes no solo	44
6.4.5. O pH do solo	47
6.4.6. A interferência entre nutrientes	50
7. O armazenamento dos nutrientes	50
8. A eliminação dos minerais	51
9. A interdependência entre a raiz e a parte aérea	52

ÍNDICE (Continuação)

	<u>Página</u>
2ª PARTE: ABSORÇÃO E TRANSPORTE DE SOLUTOS	55
1. Introdução	55
2. Características da absorção de solutos	58
2.1. A especificidade e a selectividade na absorção de solutos	58
2.2. O conceito de espaço livre	59
2.3. A acumulação de solutos no interior das células	61
2.4. A cinética de absorção de solutos	62
3. A energia nos processos de transporte	65
3.1. O conceito de potencial químico (μ_s)	65
3.2. Gradientes de potencial químico ($\Delta\mu_s$)	67
3.3. O potencial de membrana (V_m)	68
3.4. A equação de Nernst	68
4. Mecanismos de transporte membranar	73
4.1. Difusão facilitada	76
4.1.1. Os canais	76
4.1.1.1. O método de “Patch Clamp”	77
4.1.1.2. Abertura e fecho dos canais	79
4.1.1.3. As aquaporinas	80
4.1.2. Os transportadores “carriers”	80
4.2. Transporte activo	81
4.2.1. Transporte activo primário – as “bombas”	81
4.2.1.1. As bombas protónicas – (H^+)ATPases e (H^+)PPases	82
4.2.1.2. As bombas de cálcio (Ca^{2+} -ATPases)	85
4.2.1.3. Os transportadores ABC (ATP-binding cassette)	85
4.2.2. Transporte activo secundário – co-transporte	86
3ª PARTE: A ASSIMILAÇÃO DE NUTRIENTES MINERAIS	89
1. Introdução	89
2. O azoto	89
2.1. O ciclo do azoto	90
2.2. A assimilação do nitrato	91
2.3. A assimilação do amónio	92
2.3.1. A via principal de assimilação do amónio	92
2.3.1. A via alternativa para a assimilação do amónio	94
2.4. A transaminação e formação de aminoácidos	94

ÍNDICE (Continuação)

	<u>Página</u>
2.5. A fixação biológica do azoto	95
2.5.1. A formação de nódulos radiculares	96
2.5.2. A fixação do azoto molecular (N ₂)	99
2.5.3. A manutenção de condições anaerobióticas	101
2.5.4. Outras formas de simbiose para a fixação do azoto	101
2.5.5. A translocação do azoto fixo pelos simbiontes	103
3. O enxofre	104
3.1. O ciclo do enxofre	104
3.2. A assimilação do sulfato	106
3.2.1. A redução do sulfato	106
3.2.2. A redução do APS a cisteína	108
4. O fósforo	111
4.1. O ciclo do fósforo	112
4.2. A absorção do fósforo	114
5. O oxigénio	116
6. Os catiões	117
6.1. A absorção de catiões macronutrientes	118
6.1.1. O potássio	118
6.1.2. O cálcio	119
6.1.3. O magnésio	121
6.2. A absorção de catiões micronutrientes	122
6.2.1. O zinco	122
6.2.2. O ferro	122
Bibliografia	127
ANEXO 1: Composição de soluções nutritivas	129
ANEXO 2: Solos e deficiências em elementos minerais	131
ANEXO 3: Local de acumulação e facilidade de transporte dos nutrientes minerais	133
ANEXO 4: Sintomas de deficiências em nutrientes minerais	134
ANEXO 5: Sintomas de excessos em nutrientes minerais	136
ANEXO 6: Cálculo da concentração interna de iões	138

1ª PARTE: OS NUTRIENTES MINERAIS

1. INTRODUÇÃO

Os seres **heterotróficos**, como nós, dependem de moléculas ricas em energia previamente sintetizadas por outros organismos. Pelo contrário, as plantas são seres **autotróficos** e por isso precisam de retirar do meio ambiente o carbono, a água e os nutrientes minerais e é a partir destes compostos totalmente inorgânicos que têm de formar todas as moléculas que constituem o seu corpo. Como as plantas estão na base da cadeia trófica, os nutrientes minerais que assimilam vão acabar por fazer parte dos corpos de todos animais, incluindo os seres humanos (Hopkins e Hüner, 2009). Assim, podemos considerar que as plantas representam a “porta de entrada” dos nutrientes minerais na ecosfera (Morod-Gaudry, 2009).

A maior parte dos elementos que são necessários para o desenvolvimento das plantas está presente nos minerais existentes nas rochas. Quando estas se desgastam e quebram os minerais vão sendo gradualmente convertidas em iões e compostos inorgânicos que serão disponibilizados para as raízes no solo. Porque estes iões e compostos inorgânicos são inicialmente provenientes de minerais das rochas, o estudo da sua função na nutrição das plantas é chamado **nutrição mineral**. (Mauseth, 2009)

O termo nutrição mineral cobre, de facto, uma série de processos fisiológicos associados à nutrição. Alguns elementos, como o potássio (K), podem ser imediatamente utilizados após serem absorvidos para, por exemplo, alterar as relações de turgescência de certas células. Outros, como o ferro (Fe) e o magnésio (Mg), são fisiologicamente mais complexos, pois precisam de ser incorporados em moléculas orgânicas, como os citocromos e a clorofila respectivamente. O azoto (N) é ainda mais complexo necessitando de ser reduzido para formas fisiologicamente úteis, o que envolve a acção de cadeias de transporte de electrões (Mauseth, 2009).

1.1. AS FONTES DE NUTRIENTES

O conhecimento de que as raízes das plantas terrestres obtêm alimento do solo já data de há muitos séculos. A aplicação de substâncias diversas aos solos para aumentar o crescimento das plantas é, possivelmente, uma acção tão velha como a própria agricultura. Muito antes de se compreender as necessidades nutricionais das plantas, já se tinha verificado que adicionar ao solo estrume, restos de tecidos vegetais ou animais, raspas de madeira, ou outros compostos de origem orgânica, melhorava a produtividade das plantas (Noggle e Fritz, 1976).

No entanto, as plantas alimentam-se de forma tão pouco evidente que, foram necessários vários séculos de observação e investigação antes de se compreender a função desempenhada pela luz, pela atmosfera e pelo solo na sua alimentação.

A atmosfera fornece dióxido de carbono. Todos os átomos de carbono e a maior parte dos átomos de oxigénio da matéria seca das plantas superiores autotróficas são provenientes do dióxido de carbono que é assimilado essencialmente pela fotossíntese. O carbono e o oxigénio constituem cerca de 90 % do peso seco da maioria das plantas superiores, pelo que se pode considerar que a maior parte do peso seco duma planta é proveniente da atmosfera (Noggle e Fritz, 1976).

O oxigénio molecular proveniente da atmosfera é o último oxidante da respiração aeróbica. Neste processo o oxigénio é reduzido a água que se mistura com a água presente nas células. Para além da sua função na respiração, o oxigénio molecular pode ser incorporado em certos constituintes orgânicos, é o caso da peroxidação de certos ácidos gordos. O azoto atmosférico pode também ser incorporado nas plantas através da acção de microorganismos que vivem em simbiose com as plantas. Por fim, as plantas podem assimilar quantidades ínfimas de amónia (NH_3) e dióxido de enxofre (SO_2) que existem na atmosfera (Noggle e Fritz, 1976).

Do solo, mais concretamente da **rizosfera**¹, as plantas retiram água em grandes quantidades, e ainda que a maior parte da água absorvidas pelas raízes seja perdida pela transpiração, uma pequena parte (0.2 %) é utilizada em reacções metabólicas, como por exemplo as reacções de hidrólise do amido. A água é também um reagente nas reacções da fotossíntese directamente dependentes da luz (Noggle e Fritz, 1976).

¹ Rizosfera é o conjunto das raízes, solo e microorganismos intimamente relacionados com aquelas (Jones *et al.*, 2013).

O solo também fornece iões minerais derivados da rocha e da decomposição de resíduos animais e vegetais. Tanto a água como os iões minerais são absorvidos essencialmente pelas raízes, mas nalgumas espécies que crescem em troncos e ramos de árvores, ou noutros suportes, os iões minerais são obtidos de partículas do ar que se depositam na sua superfície e que se dissolvem na água da chuva ou no orvalho, são as chamadas plantas **epífitas** ou **epifíticas**..

1.2. BREVE HISTORIAL DO ESTUDO DA NUTRIÇÃO MINERAL

O conhecimento da nutrição das plantas a partir do solo e da atmosfera data de há apenas 200 anos. **Aristóteles** (384-322 AEC²) considerava que tanto as plantas como os animais obtinham alimento em combinações variadas dos quatro elementos considerados na época: a “terra”, o “ar”, o “fogo” e a “água”. No entanto, como as plantas não tinham um sistema digestivo, Aristóteles deduziu que as plantas absorviam o seu alimento do solo onde “os sumos nutritivos” eram formados. Estes alimentos “pré-digeridos”, como lhes chamava, eram absorvidos pelas raízes e incorporados directamente, sem qualquer alteração, no corpo da planta (Noggle e Fritz, 1976 e King, 2011).

Durante muitos séculos o saber de Aristóteles não foi contestado. Considerava-se que realizar experiências era algo indigno dos poderosos de então e quaisquer opiniões diferentes do expresso por Aristóteles eram consideradas heréticas (King, 2011). Nos finais do século XV, **Cusa** propôs que a água era “transmutada” em material vegetal. Esta hipótese foi “demonstrada” no século XVII, ainda que apenas publicada no século XVIII, pelo alquimista belga **Van Helmont** que colocou um salgueiro (*Salix babylonica* L.) com perto de 3 kg em cerca de 200 kg de solo. Durante 5 anos apenas acrescentou água ao solo e verificou que o salgueiro passou a pesar cerca de 90 kg, enquanto que o solo durante este tempo apenas tinha perdido cerca de 60 g. Como a perda de peso do solo era muito pequena, ele desprezou-a, e assim considerou que, como só tinha acrescentado água, o aumento do peso da planta era necessariamente “devida” à transmutação da água em material vegetal (Noggle e Fritz, 1976 e King, 2011). Esta conclusão foi importantíssima, pois foi a primeira vez que se pensou que a grande contribuição para a formação do corpo da planta não era a “terra” (o solo). Pela primeira vez as ideias de Aristóteles foram postas em causa e mudou-se para sempre as ideias sobre a alimentação das plantas (King, 2011).

² AEC = “Antes da Era Comum” é equivalente a “Antes de Cristo” ou “Antes da Era Cristã”, mas a sua utilização é mais correcta por respeitar as religiões não cristãs.

O primeiro desafio às ideias de Van Helmont veio de **John Woodward** nos finais do século XVII. Este procurou saber se era a água em si mesma, ou o que ela transportava que nutria as plantas. Para isso, utilizou águas de várias proveniências: a água poluída do Tamisa, de outros rios e mesmo água purificada por destilação. Podemos dizer que foi o primeiro a utilizar o meio aquoso na experimentação da nutrição das plantas. Destas experiências pôde concluir que a água por si não era suficiente para nutrir uma planta, e que a “matéria terrestre” que transportava era também importante (King, 2011).

O papel da atmosfera só foi compreendido quando a química moderna se desenvolveu e se começou a compreender o processo da fotossíntese. **Stephen Hales** no seu livro “Vegetable Statics”, publicado em 1727, sugeriu que as plantas retiravam parte do seu alimento do ar através das folhas (Lawlor, 1987) o que foi corroborado por **Joseph Priestley**, no final do século XVIII. Este observou que as plantas mantidas em campânulas de vidro “restauravam” o ar que tinha ficado “danificado” pela respiração de um rato. O que ele não compreendeu é que os poderes “restaurativos” das plantas dependiam da luz (King, 2011).

A importância da luz foi estabelecida, alguns anos mais tarde, ainda no século XVIII, por **Jan Ingen-Housz** que verificou que só em presença da luz e nas partes verdes da planta se faziam sentir os seus “poderes restaurativos”. Este cientista sugeriu também que a planta absorve carbono na forma de CO_2 e que portanto algo tão insubstancial como o ar podia ser fonte de nutrientes (King, 2011).

Nicholas-Theodore de Saussure, um cientista suíço, foi o primeiro a demonstrar no início do século XIX que além do CO_2 também a água contribuía para o corpo da planta. Foi também Theodore de Saussure que, num livro publicado em 1804, indicou que o crescimento das plantas dependia da absorção pelas raízes de azoto e outros elementos na altura ainda não identificados iniciando o estudo da natureza química das substâncias necessárias para o crescimento das plantas (Noggle e Fritz, 1976 e King, 2011).

Em meados do século XIX, **Carl Sprengel** um cientista alemão estabeleceu pela primeira vez que as plantas necessitavam de um leque de nutrientes e que a falta de um deles era suficiente para impedir o seu crescimento correcto. Sensivelmente no mesmo período, **Jean-Baptiste Boussingault**, considerado por muitos o fundador da agricultura científica, realçou a importância de se saber não só a composição das plantas, mas também a necessidade de se conhecer as quantidades de minerais extraídos pelas plantas. Isto permitiria através da fertilização manter o balanço dos nutrientes no próprio solo. Posteriormente, os ingleses **John Bennet Lawes** e **Joseph Henry Gilbert** iniciaram na propriedade do primeiro,

Rothamsted Manor, uma série de ensaios de campo que conduziram à ideia que uma forte fertilização azotada permitiria um grande aumento da produção agrícola. Ainda hoje, parte da propriedade é dedicada à investigação agrícola na que hoje se chama Rothamsted Experimental Station (King, 2011).

Baseado nos estudos anteriores **Justus von Liebig** um químico alemão formulou a chamada **Lei do Mínimo** que pode ser enunciada da seguinte forma: “O crescimento é limitado não pelos recursos totais existentes, mas pelo recurso que existe em menor quantidade” (King, 2011).

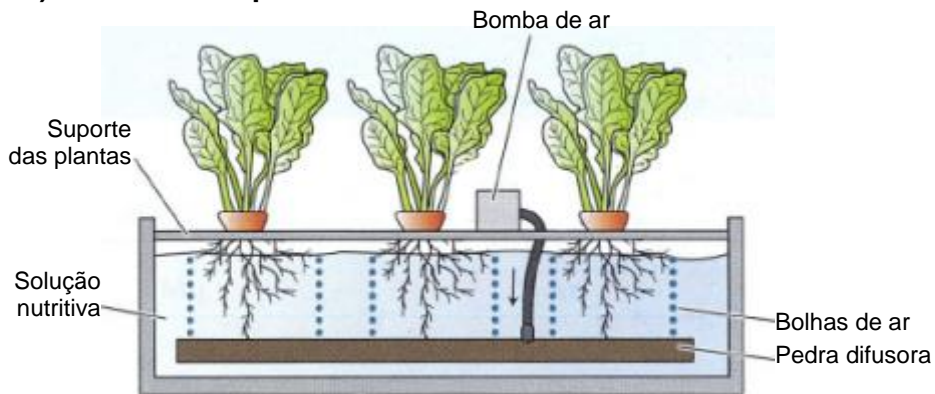
Cerca de 1860, dois fisiologistas alemães, **Julius von Sachs**, e **Wilhelm Knop**, reconheceram que era muito difícil determinar os elementos essenciais ao crescimento das plantas num meio tão complexo como o solo, e começaram a colocar as raízes das plantas numa solução de sais minerais - **solução nutritiva** - cuja composição era controlada. As culturas desenvolvidas em soluções nutritivas têm o nome de **culturas hidropónicas** (figura 1). Foi o desenvolver desta técnica que permitiu finalmente um estudo rigoroso da nutrição mineral nos vegetais (Noggle e Fritz, 1976).

1.3. CULTURAS HIDROPÓNICAS:

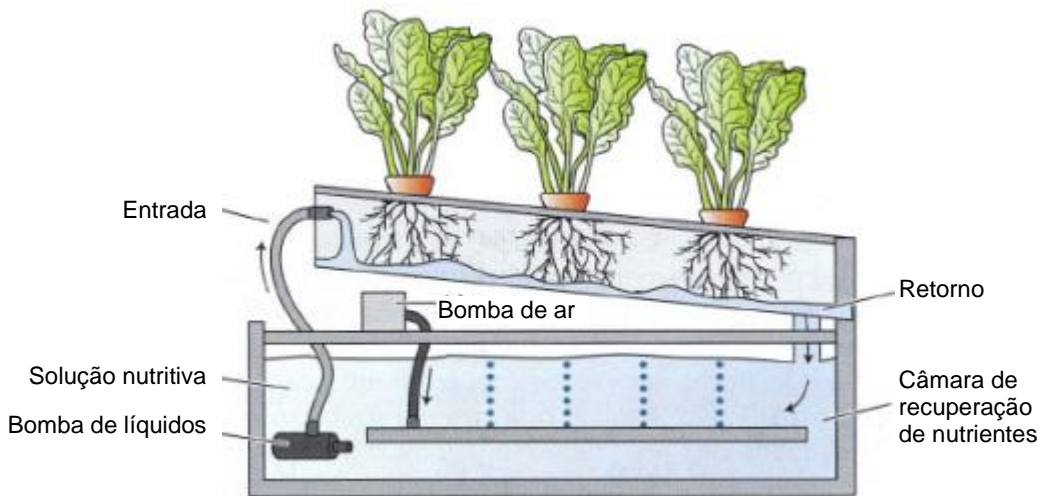
As culturas hidropónicas (figura1) são fundamentais para o estudo da nutrição mineral, e são também utilizadas comercialmente para o crescimento de plantas de interesse hortícola, como é o caso do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). No entanto, apresentam alguns inconvenientes, como seja a necessidade de arejamento permanente. Outro aspecto negativo é a necessidade de substituir ou suplementar a solução com grande frequência, uma vez que os vários nutrientes são absorvidos a velocidades diferentes, causando não só o esgotar de alguns elementos, mas também alterações de pH. Para evitar estes problemas, as explorações comerciais usam a técnica do filme de solução nutritiva (figura 1. b) que permite que a composição e pH estejam permanentemente a ser monitorizados e corrigidos no tanque (Noggle e Fritz, 1976).

Outra forma de evitar os problemas das soluções nutritivas é colocando as raízes num meio inerte, como por exemplo a **vermiculite** (silicato de alumínio e magnésio hidratado), a **perlite** (é um tipo de vidro vulcânico), esferas de vidro ou plástico, etc.. A solução nutritiva é, então, vertida sobre o meio, gota a gota, em intervalos de tempo regulares, em quantidades suficientes para permitir que a solução que lá estava escorra pelo buraco no fundo do contentor. Esta técnica, embora prática, não é aconselhável para estudos de nutrição, uma vez que o meio

A) Sistema hidropônico



B) Sistema de nutrientes num filme



C) Sistema de nebulização

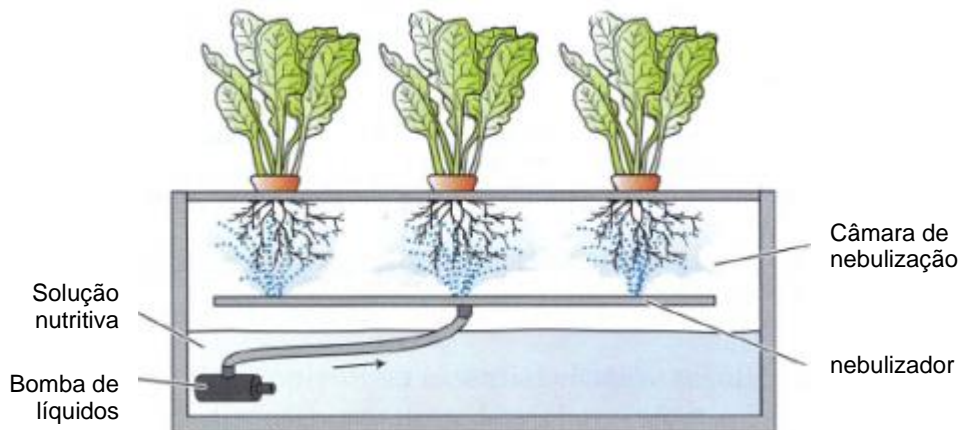
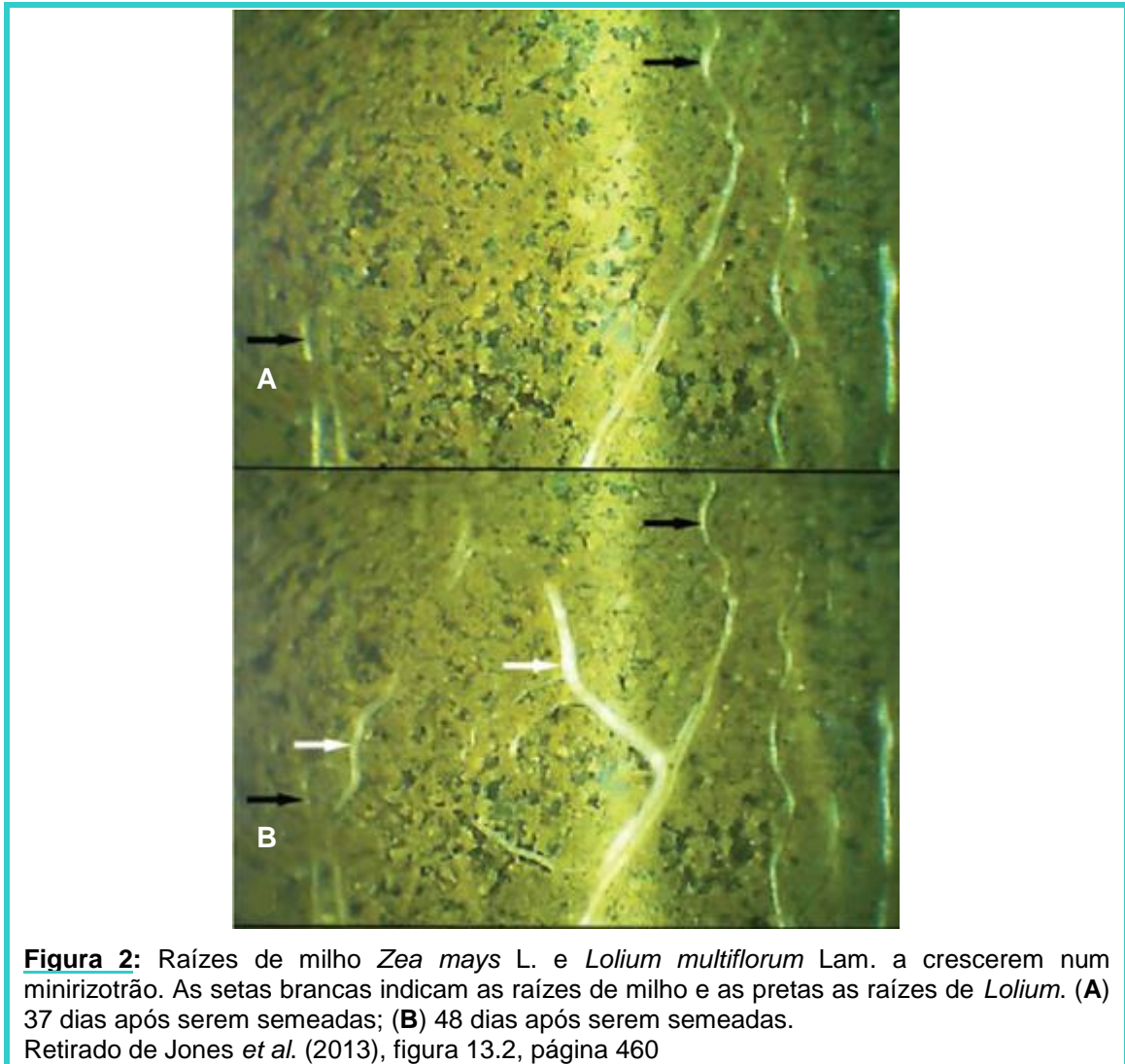


Figura 1: Aplicações de soluções nutritivas utilizando três métodos diferentes. (A) cultura em meio líquido, de notar o arejamento da solução; (B) cultura em filme de nutrientes; (C) cultura em sistema de nebulização.

Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 5.2, página 111

inerte liberta uma certa quantidade, impossível de quantificar, de elementos que são essenciais.

Uma técnica muito utilizada actualmente emprega **rizotróes**, isto é, “janelas” formadas por placas de vidro ou plástico transparente instaladas contra perfis de solo, permitindo a visualização das raízes (figura 2).



Existem numerosas fórmulas de soluções nutritivas (Anexo 1), quase todas com diferentes nutrientes em concentrações muito superiores às que existem na solução do solo. Estas concentrações mais elevadas permitem que, sobretudo nas soluções imóveis, não haja a necessidade de substituir a solução com tanta frequência. É evidente que a concentração em sais da solução não pode ser tão elevada que cause plasmólise das células das raízes. A maioria das soluções nutritivas mais utilizadas têm um potencial de solutos (Ψ_s) superior a - 0.1 MPa, pelo

que não origina um problema de turgidez nas células das plantas (Noggle e Fritz, 1976).

2. OS ELEMENTOS ESSENCIAIS

2.1. OS ELEMENTOS ESSENCIAIS EXISTENTES NOS TECIDOS:

As necessidades nutricionais das plantas podem ser estudadas analisando a composição de plantas saudáveis. A melhor forma de o fazer é, numa primeira análise, obter a **matéria seca**. Para isso colocam-se as plantas, ou órgãos, recém colhidos numa estufa a 70 ou 80 °C, de forma a retirar dos tecidos a água livre. Os principais componentes da matéria seca são polissacáridos e lenhina da parede celular, e ainda componentes do protoplasma, incluindo proteínas, lípidos, amino ácidos, ácidos orgânicos e certos elementos, como o potássio, que existem como iões mas não fazem parte de nenhum composto orgânico (Salisbury e Ross, 1992).

A determinação elementar dos tecidos pode ser obtida por uma análise mais detalhada utilizando as técnicas de “**wet ashing**”. Estas envolvem a digestão da matéria seca com os ácidos perclórico e clorídrico a temperaturas controladas, evitando assim, a perda de alguns elementos como o azoto, o fósforo e o enxofre (Sutcliffe e Baker, 1981).

Os elementos principais da matéria seca da parte aérea do milho estão descritos na tabela 1. O oxigénio e o carbono são, de longe, os elementos mais abundantes, com base no peso seco, cerca de 44 % cada, e o hidrogénio vem em terceiro lugar com 6.2 %. Esta distribuição de elementos é semelhante à que se pode encontrar nos carboidratos, incluindo celulose que é o composto mais abundante na madeira. Noutras espécies o conteúdo em carbono pode atingir os 51 % e o oxigénio pode constituir apenas 35 % do peso seco, o que já é menos semelhante à composição dos carboidratos. Ainda na parte aérea do milho encontra-se azoto em quantidades inferiores às dos três elementos considerados, e ainda vários outros elementos em concentrações ainda menores. Em análises de tecidos semelhantes foram encontrados pelo menos 60 elementos, incluindo ouro, chumbo mercúrio, arsénico, etc. Se no exemplo que se mostra na tabela, a análise tivesse sido mais completa, encontrar-se-iam quantidades mínimas de numerosos outros elementos (Salisbury e Ross, 1992).

A análise, mais moderna, da folha bandeira do milho mostra a concentração de mais três elementos: zinco, cobre e boro (tabela 1). Estes resultados mostram que as folhas geralmente contêm significativamente mais azoto, fósforo e potássio do que

a parte aérea como um todo. A tabela 1 mostra, também, o conteúdo em vários elementos de folhas de cerejeira. Assim, pode observar-se que, embora o conteúdo em azoto e enxofre destas folhas seja semelhante ao da folha bandeira do milho, há diferenças substanciais no que respeita o fósforo, o potássio e o cálcio. Estas diferenças mostram que várias espécies absorvem solutos em quantidades variáveis, especialmente se se desenvolvem em solos diferentes (Salisbury e Ross, 1992).

Tabela 1: Análise elementar de partes de plantas.

Retirado de Salisbury e Ross (1992), tabela 6.1, página 117

Elemento	Milho		Folhas de Cerejeira (% peso seco)
	Parte aérea (% peso seco)	Folha bandeira (% peso seco)	
Oxigénio	44.4	----	----
Carbono	43.6	----	----
Hidrogénio	6.2	----	----
Azoto	1.5	3.2	2.4
Potássio	0.92	2.1	0.73
Cálcio	0.23	0.52	1.70
Fósforo	0.20	0.31	0.15
Magnésio	0.18	0.32	0.61
Enxofre	0.17	0.17	0.15
Cloro	0.14	----	----
Ferro	0.08	0.012	0.0058
Manganês	0.04	0.009	0.0044
Cobre	----	0.0009	0.0006
Boro	----	0.0016	0.003
Zinco	----	0.003	0.001
Silício	1.2	----	----
Alumínio	0.89	----	----
Indeterminado	7.9	----	----

2.2. CRITÉRIOS DE ESSENCIALIDADE :

De todos os elementos minerais absorvidos nem todos são essenciais. Há, então, que determinar a essencialidade de cada elemento utilizando culturas hidropónicas, como fizeram **von Sachs** e **Knop** nos anos 60 do século XIX (ver mais acima, página 5).

O princípio é estabelecer uma solução que permita o desenvolvimento saudável de plantas. Inicialmente isto foi feito por tentativa e erro, adicionando-se vários compostos químicos à solução nutritiva. Verificou-se, então, que existiam alguns aspectos a ter em consideração nestes estudos (Mauseth, 2009):

1. Alguns químicos necessários para as plantas, quando presentes em concentrações mais elevadas tornam-se tóxicos.

2. A forma como um elemento está presente na solução é importante. Assim, o azoto (N) é utilizado pelas plantas nas formas nitrato e amónia, mas não é utilizado noutras formas.

3. Quando vários compostos são adicionados à mesma solução podem ocorrer reacções entre eles criando compostos inúteis para as plantas, ou mesmo tóxicos.

4. Apesar dos reagentes utilizados para a preparação das soluções nutritivas serem cada vez mais puros, é ainda impossível garantir que na solução só estão os elementos que se pretendem e não contaminações presentes em quantidades mínimas. Assim, sabe-se que mesmo o melhor vidro liberta quantidades ínfimas de silício (Si) e boro (B). O cloro (Cl) foi durante muito tempo considerado não essencial até que se percebeu que o toque dos dedos dos investigadores nas plantas continha a quantidade de cloro necessária, e que se os investigadores usassem luvas as plantas já não eram capazes de sobreviver (Mauseth, 2009).

Para além do cuidado na preparação das soluções nutritivas também é necessário filtrar o ar para evitar as poeiras nele suspensas. Os próprios propágulos podem conter quantidades suficientes do micronutriente em estudo para garantirem as necessidades da planta durante todo o seu ciclo de vida. Para evitar este problema há que recorrer a plantas que foram criadas por duas ou três gerações na ausência do microelemento (Öpik e Rolfe, 2005).

A evolução da preparação das soluções nutritivas e dos métodos de estudo levou a que os próprios critérios de essencialidade fossem também evoluindo. Inicialmente estabeleceram-se dois critérios principais:

1º - Um elemento é essencial se a planta não puder completar o seu ciclo de vida, isto é, formar sementes viáveis, na ausência desse elemento.

2º - Um elemento é essencial se faz parte de qualquer molécula ou constituinte da planta que é essencial para a planta, como por exemplo, o azoto que faz parte das proteínas e o magnésio que faz parte da clorofila.

Estes dois critérios permitiram estabelecer uma lista de 17 elementos que são essenciais para todas as plantas estudadas até agora (tabela 2). Posteriormente, alguns especialistas de nutrição vegetal introduziram mais dois critérios:

3º - Para um elemento ser essencial é necessário que ele actue directamente dentro da planta, e não como factor de correcção nalguma condição microbiológica ou química do solo, ou de qualquer meio de cultura.

Este terceiro critério, embora não tenha sido tão útil como os dois primeiros, tem tido aplicação nalguns casos. Este terceiro critério permite distinguir entre um elemento **essencial** e um elemento **benéfico**, que veremos mais adiante.

4º - Um elemento é essencial se, na ausência desse elemento na solução nutritiva, as plantas apresentarem sintomas de deficiência, mesmo que essas plantas consigam desenvolver sementes viáveis.

Este quarto critério baseia-se no princípio de que, se esse elemento estivesse ausente das sementes, partículas do ar, contaminações da solução, etc., isto é, se as plantas não pudessem ter acesso a rigorosamente nada desse elemento, elas desenvolveriam sintomas de deficiência tão severos que morreriam antes de conseguir formar sementes viáveis (Salisbury e Ross, 1992).

A tabela 2 indica os elementos essenciais para a totalidade das plantas superiores estudadas, assim como a forma molecular ou iônica que é absorvida pelas plantas, isto é, o **nutriente** correspondente a cada elemento. Apresentam-se também as concentrações que se supõem ser mais adequadas, e o número de átomos

Tabela 2: Elementos essenciais para a maioria das plantas superiores, e concentrações supostamente adequadas. Retirado de Salisbury e Ross (1992), tabela 6.3, página 120.

Elemento	Símb. Quím.	Nutriente	Concentração na matéria seca (mg kg ⁻¹)	Nº relativo de átomos comparando com o Molibdénio
Molibdénio	Mo	MoO ₄ ²⁻	0.1	1
Níquel	Ni	Ni ²⁺	?	?
Cobre	Cu	Cu ⁺ , Cu²⁺	6	100
Zinco	Zn	Zn ²⁺	20	300
Manganês	Mn	Mn ²⁺	50	1 000
Boro	B	H ₃ BO ₃ , H ₂ BO ₃ ⁻	20	2 000
Ferro	Fe	Fe ³⁺ , Fe²⁺	100	2 000
Cloro	Cl	Cl ⁻	100	3 000
Enxofre	S	SO ₄ ²⁻	1 000	30 000
Fósforo	P	H₂PO₄⁻ , H ₂ PO ₄ ²⁻	2 000	60 000
Magnésio	Mg	Mg ²⁺	2 000	80 000
Cálcio	Ca	Ca ²⁺	5 000	125 000
Potássio	K	K ⁺	10 000	250 000
Azoto	N	NO₃⁻ , NH ₄ ⁺	15 000	1 000 000
Oxigénio	O	O ₂ , H ₂ O	450 000	30 000 000
Carbono	C	CO ₂	450 000	35 000 000
Hidrogénio	H	H ₂ O	60 000	60 000 000

NOTA: Sempre que existam duas formas a mais comum encontra-se a negrito. A rosa indica-se os nutrientes absorvidos na forma molecular e a verde os absorvido na forma aniónica.

necessários de cada elemento em relação ao molibdénio. Esta diferença reflecte a importância do hidrogénio em milhares de compostos essenciais, enquanto o molibdénio actua cataliticamente apenas nalguns compostos (Salisbury e Ross, 1992).

Os primeiros oito nutrientes da tabela 2 são chamados **micronutrientes** e são necessários em concentrações iguais ou inferiores a 100 mg kg^{-1} de matéria seca. Os últimos nove são chamados **macronutrientes** e são necessários em concentrações iguais ou superiores a $1\ 000 \text{ mg kg}^{-1}$ de matéria seca (Salisbury e Ross, 1992).

É mais fácil verificar se um elemento é essencial que o contrário. Assim, por vezes um elemento em estudo pode ser necessário, mas em concentrações que são inferiores aos limites de sensibilidade dos instrumentos utilizados para a sua detecção. Devido a este tipo de problemas é de esperar que mais alguns elementos venham, num futuro próximo, a juntar-se à lista dos que são essenciais para as plantas (Salisbury e Ross, 1992).

2.3. OS ELEMENTOS BENÉFICOS:

Algumas espécies requerem outros elementos para além dos dezassete listados na tabela 2. No entanto, porque não são necessários para a generalidade das plantas superiores, não são considerados essenciais e sim **benéficos** (Hopkins e Hüner, 2009). Na definição dada por Öpik e Rolfe (2005), os elementos benéficos não são absolutamente necessários para a sobrevivência dos indivíduos, mas promovem o seu crescimento e vigor. No entanto, estes mesmos autores chamam a atenção para o facto de alguns destes elementos poderem vir a ser considerados essenciais no futuro.

A tabela 3 apresenta uma lista de elementos considerados benéficos; de algumas das espécies para as quais podem ser considerados essenciais, assim como algumas das suas possíveis funções. Em muitos casos pensa-se que serão benéficos por substituírem outros elementos em falta.

3. AS FUNÇÕES PRINCIPAIS DOS NUTRIENTES MINERAIS

Para alguns autores como Taiz e Zeiger (2010) os elementos hidrogénio, carbono e oxigénio não podem verdadeiramente ser considerados nutrientes minerais, uma vez que são obtidos primariamente da água e do dióxido de carbono. Por outro lado, são os constituintes básicos de todas as moléculas orgânicas, pelo que não tem sentido referi-los quando falamos nas funções dos nutrientes minerais. Sem eles pura e simplesmente não haveria organismos vivos.

Tabela 3: Elementos benéficos e algumas das plantas superiores para as quais são essenciais. Adaptado de Salisbury e Ross, 1992; Öpik e Rolfe (2005) tabela 4.1 página 102 e Jones (2012) tabela 13.4 página 105.

Elemento	Nutriente	Plantas e funções
Alumínio (Al)	Al ³⁺	Algumas gramíneas e as plantas de chá (<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze. Encontram-se traços no DNA e RNA
Cobalto (Co)	Co ²⁺	Leguminosas (<i>Fabaceae</i>) que estabelecem uma relação simbiótica com bactérias fixadoras de azoto. Acelera a germinação do pólen; maximiza a distribuição dos cloroplastos em relação à superfície foliar
Estrôncio (Sr)	Sr ²⁺	Em certas espécies parece substituir o Ca ²⁺
Iodo (I)	I ₂	Estimula a síntese de celulose e lenhificação de caules; aumenta a síntese de ácido ascórbico; e melhora a tolerância à salinidade por NaCl por diminuir a absorção de Cl
Lítio (Li)	Li ⁺	Batateira (<i>Solanum tuberosum</i> L.) e pimento (<i>Capsicum annum</i> L.) aumenta o conteúdo em clorofila; na beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.) afecta o transporte de açúcares das folhas para as raízes
Prata	Ag ⁺	Bloqueia a produção de etileno, pelo que compostos contendo prata podem aumentar o tempo de vida de flores cortadas
Rubídio (Rb)	Rb ⁺	Várias espécies em solos pobres em K ⁺ ; em beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.) melhora o conteúdo em açúcares
Selénio (Se)	SeO ₄ ²⁻	<i>Astragalus</i> sp. em solos ricos em selénio; tremço-branco (<i>Lupinus albus</i> L.) e certas gramíneas como <i>Phleum pratense</i> L. Pode substituir o enxofre (S) em certos amino ácidos do trigo (<i>Triticum</i> spp.)
Silício (Si)	H ₄ SiO ₄	Gramíneas de terrenos encharcados; é importante no crescimento, suporte mecânico e absorção de outros elementos; é também importante na resistência a doenças provocadas por fungos.
Sódio (Na)	Na ⁺	Espécies com metabolismo em C ₄ e CAM; em certas espécies pode ser benéfico em pequenas concentrações e nocivo em concentrações mais elevadas, por substituir o K ⁺ , como é o caso do espinafre (<i>Spinacea oleracea</i> L.)
Titâneo	Ti ³⁺	Pode ter uma função na fotossíntese e na fixação de azoto; aumenta a produção, a maturação e o conteúdo em açúcares de muitos frutos. Alguns autores especulam que seria possível provar tratar-se de um elemento fundamental se se conseguisse obter uma solução sem a sua presença.
Vanádio (V)	VO ³⁻	Alface (<i>Lactuca sativa</i> L.); Tomateiro (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill). Complementa e melhora a acção do molibdénio (Mo); contribui para os estádios iniciais da germinação de sementes.

Para simplificar o seu estudo podemos classificar os nutrientes minerais considerados essenciais em quatro grupos principais de acordo com a sua função (tabela 4). Assim, temos um primeiro grupo de nutrientes que fazem parte de compostos carbonados (azoto e enxofre); um segundo grupo em que estão os que são importantes no transporte de energia e integridade estrutural (fósforo e boro); um

Tabela 4: Classificação dos nutrientes minerais de acordo com a sua função.
Retirado de Taiz e Zeiger (2010), tabela 5.2, página 109 e de Jones (2012), tabela 3.5 página 23

Nutrientes	Funções
GRUPO 1	Nutrientes que são parte de compostos de carbono
Azoto (N)	Na forma orgânica é constituinte de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, coenzimas, entre outras moléculas. Na forma inorgânica (NO_3^{3+}) pode acumular-se nos caules e nos tecidos condutores.
Enxofre (S)	Está envolvido na síntese de proteínas. É parte dos amino ácidos cisteína, cistina, metionina, e timina. É constituinte de biomoléculas de grande importância no metabolismo energético como a coenzima A e tiamino pirofosfato; de protecção contra stresses abióticos como a glutatona e biotina; e stresses bióticos como os glucosinolatos.
GRUPO 2	Nutrientes que são importantes no transporte de energia e integridade estrutural
Fósforo (P)	Componente dos açúcares fosfatados, ácidos nucleicos, nucleótidos, etc. Tem um papel fundamental nas reacções que envolvem ATP e por ser parte do DNA e RNA está envolvido na informação genética.
Boro (B)	Está envolvido em várias actividades celulares como a divisão, o crescimento, a diferenciação, a maturação a respiração entre outras. Está há muito associado à germinação do tubo polínico. Pensa-se que esteja envolvido na formação da base uracilo, constituinte do RNA.
GRUPO 3	Nutrientes que permanecem na forma iónica
Potássio (K)	É um cofactor de mais de 40 enzimas. É o catião principal na manutenção da turgidez celular e na manutenção da electroneutralidade, fazendo parte do mecanismo de abertura e fecho dos estomas. É necessário para a translocação e acumulação de carboidratos recém-formados.
Cálcio (Ca)	É constituinte da lamela média; desempenha uma função importante na manutenção da integridade celular e permeabilidade membranas. Cofactor de algumas das enzimas envolvidas na hidrólise do ATP e fosfolípidos. Activa algumas das enzimas envolvidas na mitose, na divisão celular, e expansão celular. É também importante na síntese de proteínas e transferência de carboidratos. É um mensageiro secundário na regulação metabólica. Serve ainda como agente desintoxicante na presença de metais pesados.
Magnésio (Mg)	Constituinte da molécula de clorofila. É um cofactor para muitas enzimas envolvidas na transferência de fosfato. Estabiliza as partículas ribossomais na configuração necessária para a síntese de proteínas.
Cloro (Cl)	Necessário para as reacções fotossintéticas que envolvem libertação de oxigénio. Funciona como osmótico na manutenção da turgidez celular, como é o caso das células estomáticas. Aumenta a hidratação dos tecidos. Pode estar envolvido na defesa de certas plantas contra doenças causadas por fungos.

Tabela 4 (Cont.): Classificação dos nutrientes minerais de acordo com a sua função.
Retirado de Taiz e Zeiger (2010), tabela 5.2, página 109 e de Jones (2012), tabela 3.5 página 23

Manganês (Mn)	Está envolvido nos processos de oxidação-redução do sistema de transporte electrónico da fotossíntese. É essencial no complexo de oxidação da água associado ao fotossistema II. É necessária para a actividade de algumas desidrogenases, oxidases, descarboxilases, cinases e peroxidases. Está relacionada com outras enzimas activadas por catiões e na libertação de O ₂ . Activa oxidases de auxinas.
GRUPO 4	Nutrientes intervenientes nas reacções redox
Ferro (Fe)	É um componente importante em muitos sistemas enzimáticos, tais como citocromo oxidase (transporte electrónico) e citocromo. É um componente da proteína ferredoxina e é, por isso, necessário para a redução de NO ₃ e SO ₄ , assimilação do azoto e produção de energia. É parte de um sistema enzimático associado à formação de clorofilas. Pensa-se que esteja envolvido na síntese de proteínas e no crescimento do ápice radicular.
Zinco (Zn)	Está envolvido nas mesmas funções enzimáticas que o manganês e o magnésio. Está associado a enzimas muito importantes como a anidrase carbónica.
Cobre (Cu)	É um constituinte da proteína plastocianina importante no transporte electrónico no cloroplasto entre os fotossistemas II e I. Participa no metabolismo das proteínas e dos carboidratos, assim como na fixação do azoto molecular (N ₂). É componente de várias enzimas como a monoamino oxidase, uricase e citocromo oxidase. Está envolvido na dessaturação e hidroxilação dos ácidos gordos.
Níquel (Ni)	Constituinte da urease, superóxido dismutase, acetil-CoA sintase e várias outras metalo-enzimas. Nas bactérias fixadoras de azoto é constituinte de hidrogenases.
Molibdénio (Mo)	Constituinte de dois grandes sistemas enzimáticos: a nitrato desidrogenase e a nitrogenase. O molibdénio é menos importante nas plantas que utilizam o amónio como fonte de azoto

terceiro grupo onde colocamos os que permanecem na forma iónica (potássio, cálcio, magnésio, cloro, manganês) e finalmente o grupo dos que intervêm nas reacções redox (ferro, cobre, zinco, níquel, molibdénio).

4. AS CONCENTRAÇÕES DE NUTRIENTES NOS TECIDOS

Vimos anteriormente, na página 9, que as plantas absorvem os solutos de forma diferente quando se desenvolvem em solos diferentes. Independentemente das características das plantas, a análise das suas cinzas permite ter alguma ideia da disponibilidade em minerais de um dado local permitindo estabelecer **grupos geoquímicos de plantas** (“geochemical plant groups”) (figura 3). Plantas que se desenvolvem em solos ricos em azoto como prados, pastagens e ambientes ruderais³ apresentam um forte teor em azoto nas suas cinzas. Acumula-se cálcio nas

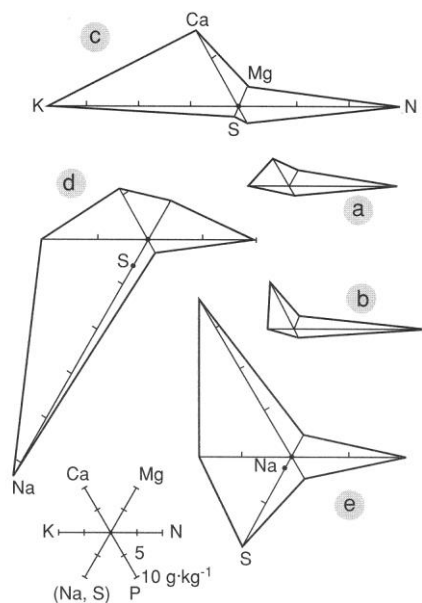


Figura 3: Diagramas radiais da proporção em que se encontram alguns dos principais nutrientes em folhas de: **a)** floresta tropical húmida; **b)** floresta temperada (carvalhos); **c)** plantas herbáceas de regiões temperadas húmidas; **d)** halófitas; **e)** plantas de solos secos. N=azoto; S=enxofre; P=fósforo; K=potássio; Mg=magnésio; Ca=cálcio; Na=sódio. O sódio e o enxofre estão representados no mesmo eixo.

Retirado de Larcher (2001), figura 3.9, página195

plantas de solos calcários e na vegetação de zonas subtropicais secas; alumínio, ferro e manganês acumulam-se nas plantas presentes em solos ácidos; acumula-se

³ Ruderais - designação dada em ecologia às comunidades vegetais que se desenvolvem em ambientes fortemente perturbados pela acção humana.

silício nas florestas tropicais e savanas enquanto as plantas halófitas⁴ típicas de solos salinos acumulam cloro e sulfato. Perto das minas e nas suas escórias as plantas apresentam um teor muito elevado em metais pesados (Larcher, 2001)

Pelo estudo das cinzas podemos, também, detectar deficiências nutricionais e fertilizações incorrectas de plantas agrícolas. Embora o fornecimento inadequado de um nutriente possa ser limitante para o crescimento de uma planta (Lei do Mínimo de Liebig – página 4) uma colheita não é determinada por um elemento apenas. Para as plantas poderem ter um bom desenvolvimento são necessárias que se realizem duas condições (Larcher, 2001):

1. Todos os macro e micronutrientes têm de ser absorvidos em quantidades suficientes;

2. Todos os nutrientes têm de ser absorvidos em proporções equilibradas.

A figura 4 mostra os estados nutricionais principais resultantes da incorporação mineral nos tecidos: estado de deficiência; estado adequado e estado desfavorável ou de excesso.

As plantas que estão em **deficiência mineral** têm um desenvolvimento anormal e são mais pequenas. Pode acontecer que durante o desenvolvimento das plantas a tomada de minerais não consiga acompanhar a formação de matéria orgânica o que tem como consequência a diminuição da concentração em nutrientes minerais – *efeito de diluição*. Como o que é importante para o metabolismo das plantas é a concentração e não a quantidade em termos absolutos, é frequente aparecerem sintomas de deficiência nutricional em plantas com crescimento excessivamente rápido. Por outro lado, se o crescimento for restringido por outros factores como o frio, a falta de água ou um hábito anão, então uma mesma concentração de minerais nos tecidos é obtida para uma menor formação de matéria orgânica. Pode pensar-se que o hábito anão é uma estratégia em situações de stresse de carência nutricional devido à concentração de minerais nos tecidos que resulta do seu fraco crescimento – *efeito de acumulação* (Larcher, 2001). Se a deficiência envolve determinado elemento, ou se a planta exige quantidades extraordinariamente grandes de um dado elemento podem, então, aparecer sintomas específicos dessa deficiência.

Quando a disponibilidade **mineral** é **adequada**, a gama de concentrações em nutrientes disponíveis pode ser larga sem que haja alterações significativas na produção. Satisfeitas as necessidades em nutrientes das plantas, um aumento em nutrientes não vai causar nenhum aumento do crescimento das plantas – *consumo*

⁴ Halófitas são plantas tolerantes à salinidade

de luxo. No entanto, há que ter em conta que este excesso nutricional pode conferir vantagens em termos de competição. Por exemplo, pode aumentar a resistência a agentes patogénicos ou a condições climáticas extremas (Larcher, 2001).

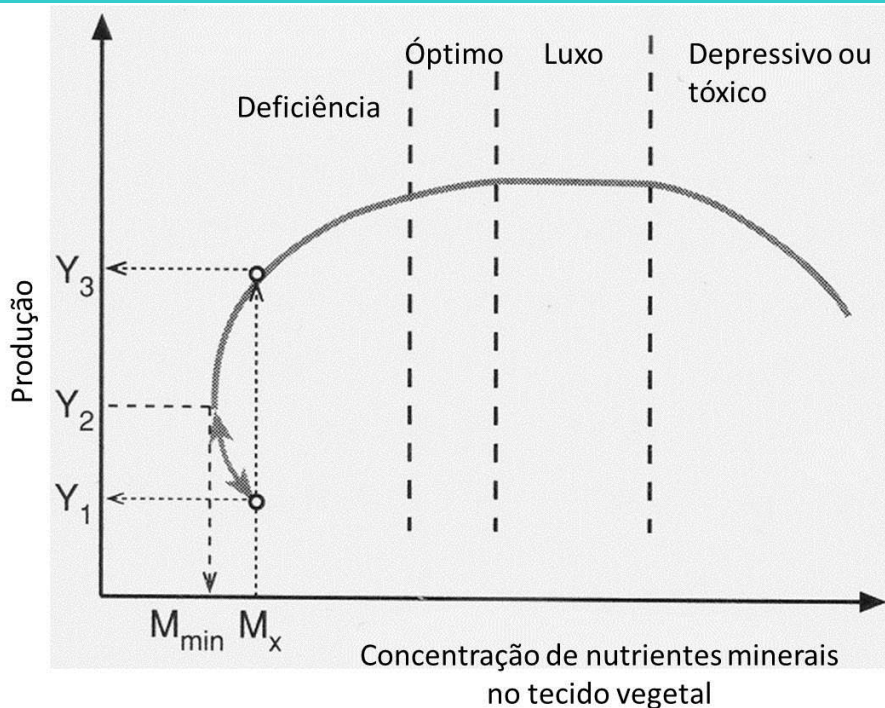


Figura 4: Representação esquemática da relação entre a concentração em nutrientes minerais numa planta e a produção de matéria seca. Se a planta permanece pequena (Y_1), mesmo um pequeno acréscimo na tomada de nutrientes é suficiente para M_x ser obtido (*efeito de acumulação*). Se a tomada de nutrientes for a adequada e se a sua incorporação durante o período de crescimento for equilibrada há um aumento considerável no crescimento da planta ($Y_1 \rightarrow Y_3$) sem que haja grandes alterações em termos de concentração nos tecidos (M_x). No entanto, se houver um surto de crescimento rápido e a a tomada de nutrientes minerais for inferior ao aumento da matéria seca ($Y_1 \rightarrow Y_2$), então a concentração de minerais no tecido sofre um decréscimo temporário de M_x para M_{min} (*efeito de diluição*). A planta desenvolve-se melhor com uma concentração *ótima* de nutrientes minerais. A absorção de nutrientes para além desta concentração não traz qualquer benefício (*consumo de luxo*) e quantidades excessivas têm um efeito *depressivo* ou *tóxico*.

Retirado de Larcher (2001), figura 3.11, página 200

Para alguns autores como Salisbury e Ross (1992) é possível definir uma **concentração crítica** que é a concentração mínima no tecido que permite uma taxa de crescimento de cerca de 90% do máximo possível.

Na gama das **concentrações excessivas**, os nutrientes minerais podem ser nocivos ou mesmo tóxico, particularmente se apenas um está em excesso. A fertilização excessiva em azoto pode resultar num crescimento excessivamente rápido da parte aérea, poucos tecidos de suporte, sistema radicular pouco desenvolvido, desenvolvimento reprodutivo retardado, deficiente resistência quer a stresses bióticos quer abióticos (Larcher, 2001).

Gráficos semelhantes ao da figura 3 têm sido utilizados para planejar o uso eficiente de fertilizantes em culturas. No passado, apenas o custo dos fertilizantes impedia a fertilização dos solos com azoto, fósforo ou potássio, para além das concentrações críticas, mas agora sabe-se que os excessos de nitratos e algum fosfato, que não são absorvidos pelas plantas, são lexiviados dos solos e finalmente vão ter aos lagos e correntes de água. Aqui, o enriquecimento em nutrientes leva a um crescimento excessivo de algas e outras plantas que, ao morrerem, são degradadas por microorganismos. Estes usam o oxigénio dissolvido de tal forma que causam a morte dos peixes e de outros animais aquáticos. É o problema da **eutrofização**. Há ainda a considerar que a fabricação de fertilizantes azotados é um dos aspectos da agricultura moderna que consome mais energia. Assim, a utilização de fertilizantes deve ser considerado não só em termos de aumento da produção, mas também em termos de poluição da água e necessidades energéticas do mundo (Salisbury e Ross, 1992).

5. STRESSES DERIVADOS DA NUTRIÇÃO MINERAL

Os stresses derivados da nutrição mineral são complexos e exigem, para a sua compreensão, os esforços de pedologistas, ecologistas fisiologistas, bioquímicos e agrónomos. Os stresses nutricionais podem resultar quer de baixa disponibilidade em nutrientes minerais quer, pelo contrário, de concentrações excessivas. Pode também acontecer que o excesso de um elemento induza a deficiência noutro (Reddy, 2006). Os stresses podem ainda resultar das características químicas dos elementos minerais, como é o caso dos metais pesados e dos metais de transição. Também a presença de alumínio pode ser um factor de stresse em solos ácidos.

5.1. DEFICIÊNCIAS EM NUTRIENTES MINERAIS

Praticamente todos os tipos de solo contêm pelo menos pequenas quantidades dos nutrientes essenciais. Em condições naturais é raro encontrarem-se plantas cujo crescimento sofra devido à escassez ou ao excesso de nutrientes minerais. Os indivíduos de uma dada espécie ou se adaptam às condições ou não se desenvolvem (Mauseth, 2009).

Alguns solos têm concentrações tão baixas num dado elemento que poucas espécies são capazes de sobreviver. Por exemplo, os chamados solos serpentinitos são extremamente deficientes em cálcio e poucas plantas conseguem viver neles. Devido à competição com outras plantas e agentes patogénicos, as plantas mais

sensíveis provavelmente morrem antes de se poderem reproduzir e assim estão ausentes de comunidades vegetais em solos pobres num dado elemento deficitário (Mauseth, 2009).

As doenças provocadas por deficiências são mais comuns em plantas agrícolas, especialmente se sofreram selecção artificial para características de interesse económico. É o caso de plantas com crescimento rápido ou produção elevada de frutos ou sementes que exigem grandes quantidades de nutrientes minerais. O próprio acto de colher as plantas piora a situação dos solos. Assim, os frutos, as sementes, os tubérculos e as raízes de armazenamento têm as maiores concentrações em minerais numa planta. Quando estas partes são colhidas os seus minerais são removidos da área deixando apenas as partes mais pobres em minerais que por si não são suficientes para repor os que foram retirados (Mauseth, 2009).

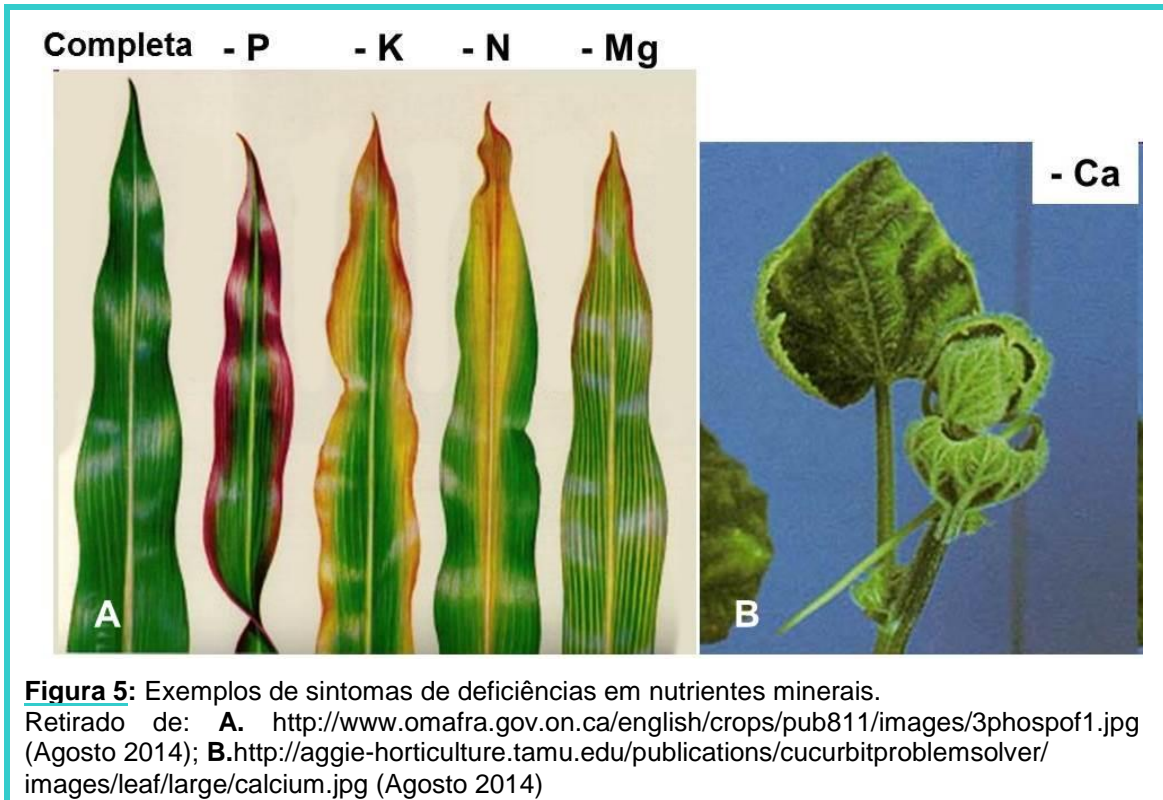
Algumas características dos solos são normalmente associadas com deficiências em nutrientes minerais, como se pode ver na tabela 15, no anexo 2 retirada de Jones (2012).

As plantas respondem a um fornecimento deficiente de um nutriente apresentando os **sintomas de deficiência** característicos (figura 5). Estes sintomas, observáveis visualmente, incluem a redução do crescimento das raízes, dos caules ou folhas, e cloroses ou necroses de vários órgãos. Os sintomas permitem muitas vezes determinar as funções do elemento na planta e ajudam agricultores e silvicultores a determinar como e quando devem proceder a uma fertilização da cultura (Salisbury e Ross, 1992).

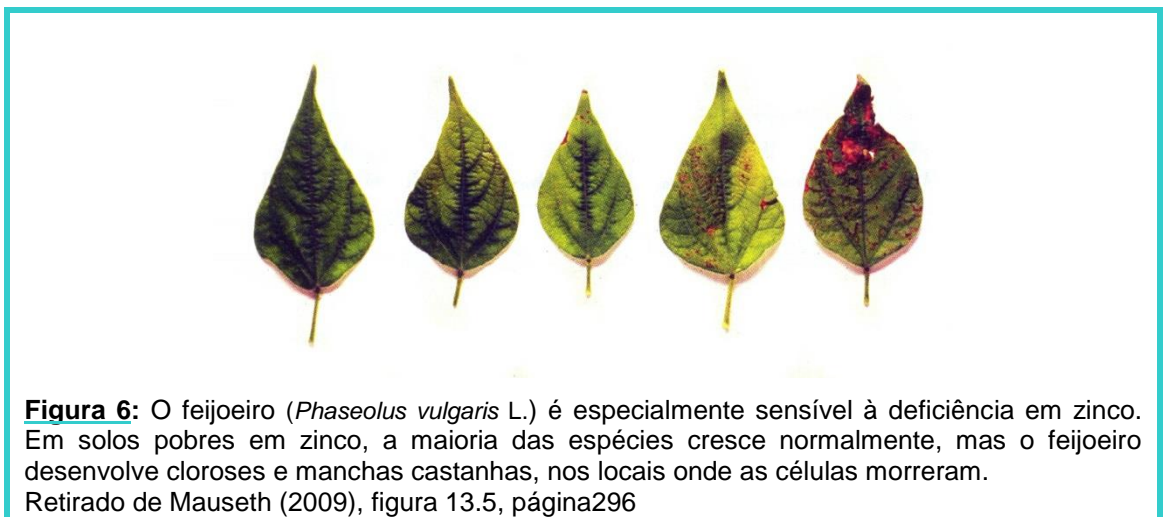
A maior parte dos sintomas descritos aparecem na parte aérea da planta e são facilmente observáveis. A menos que as plantas sejam desenvolvidas hidroponicamente, os sintomas das raízes não podem ser observados sem arrancar as raízes da terra, pelo que estes não estão tão bem descritos. É de notar que todos os sintomas diferem, até certo ponto, com a espécie (figura 6), a severidade do problema, com o estágio do desenvolvimento da planta e com as complicações que resultam de haver deficiências em dois ou mais elementos (Salisbury e Ross, 1992).

Os sintomas de deficiência para um dado elemento dependem primariamente de dois factores (Salisbury e Ross, 1992):

- 1º - A função ou funções desse elemento na planta,
- 2º - De a translocação desse elemento entre as folhas mais velhas e as mais novas se fazer, ou não, facilmente.



Um bom exemplo, que realça ambos os factores, é a clorose que resulta de uma deficiência em magnésio. Porque o magnésio é parte essencial das moléculas de clorofila, não se forma clorofila na sua ausência. Além disso, a clorose das folhas mais velhas, situadas mais abaixo no caule, é mais severa que a das folhas mais jovens. Esta diferença ilustra um princípio importante: as partes mais novas da planta têm uma grande capacidade para chamar a si os nutrientes móveis existentes nas



partes mais velhas. Os órgãos reprodutivos tais como as flores e as sementes são particularmente eficazes a remover nutrientes (Salisbury e Ross, 1992). Ainda não se

compreende bem esta capacidade de mobilização dos nutrientes, mas pensa-se que as hormonas estão envolvidas, principalmente as citocininas (Taiz e Zeiger, 2010).

A capacidade de remoção dum elemento dum folha depende da mobilidade desse elemento no floema. Esta mobilidade é em parte determinada pela solubilidade da forma química do elemento no tecido e em parte pela facilidade com que entra nos elementos crivosos do floema. Se um elemento é solúvel e pode ser transportado para o interior das células do floema os sintomas de deficiência aparecem em primeiro lugar e com maior intensidade nas folhas mais velhas. Se pelo contrário o elemento for relativamente imóvel, como o ferro ou o cálcio, os sintomas aparecem em primeiro nas folhas mais jovens. A tabela 16, (anexo 3) mostra a capacidade de movimentação e o local de acumulação dos nutrientes essenciais (Salisbury e Ross, 1992)

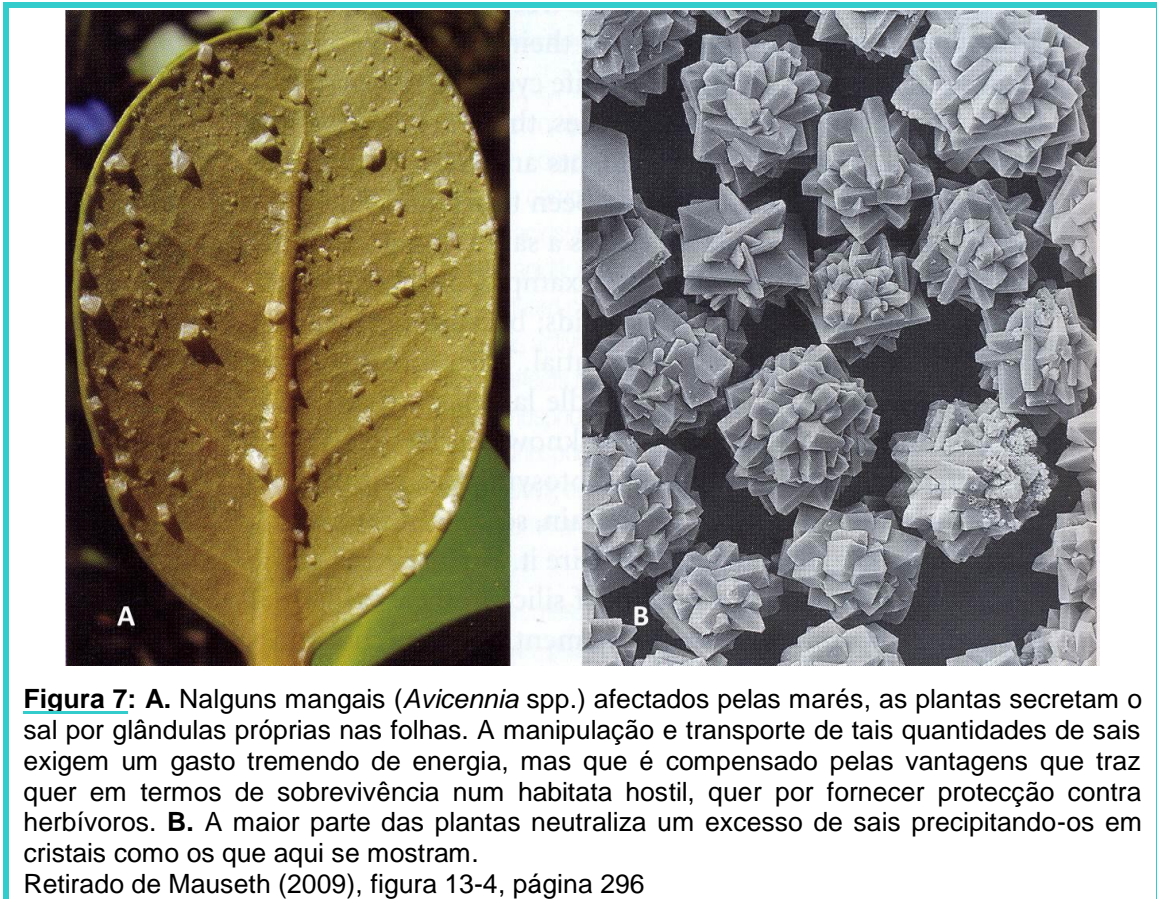
Na tabela 17, (anexo 4) apresentam-se os sintomas mais comuns resultantes de situações de deficiência em nutrientes minerais. Espécies vegetais que desenvolvem sintomas característicos de deficiências em certos minerais podem ser usadas como **espécies indicadoras** em solos suspeitos de serem deficientes nesses minerais (Öpik e Rolfe, 2005).

5.2. EXCESSO DE NUTRIENTES MINERAIS:

É particularmente raro encontrarem-se plantas a sofrer devido à abundância excessiva de um dado mineral. Em muitos casos os iões que se encontram em excesso não são sequer absorvidos pelas raízes e, nalguns casos, se o são, precipitam nos vacúolos como cristais não perturbando o metabolismo celular (Mauseth, 2009).

Os solos do deserto têm frequentemente quantidades excessivas de minerais porque a água subterrânea move-se para cima arrastando os sais minerais. Estes podem atingir concentrações tais que o potencial hídrico da solução do solo fica tão negativo que as raízes deixam de ser capazes de absorver a água. Nesta situação, as plantas não são capazes de se desenvolver não tanto devido a um stresse de toxicidade, mas a um stresse hídrico (seca fisiológica). Algumas espécies, como as *Atriplex* spp., absorvem a água e os sais minerais, mas conseguem secretá-los através de glândulas salinas que têm nas folhas. Isto produz uma cobertura de cristais de sal que se pensa ser selectivamente vantajosa (figura 7). O sal reflecte o excesso de luz e torna também as folhas pouco palatáveis para os animais (Mauseth, 2009).

No entanto, tal como acontecia em relação ao stresse de deficiência, as plantas de interesse agrícola são mais susceptíveis devido à selecção artificial e também devido a uma fertilização excessiva. Na tabela 18, (anexo 5) apresentam-se os sintomas mais comuns resultantes de situações de excesso em nutrientes minerais.



5.3. METAIS PESADOS. METAIS DE TRANSIÇÃO E ALUMÍNIO:

Metais pesados podem ser definidos como sendo os que têm uma densidade superior a 5 g cm^{-3} (Gasic, 2006). É o caso dos micronutrientes níquel (Ni), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), e manganês (Mn), que são necessários em pequenas quantidades para que haja crescimento normal, mas que quando em níveis mais elevados produzem reacções tóxicas (Jones *et al.* 2013). Também os elementos crómio (Cr), cádmio (Cd) e cobalto (Co) são metais pesados e por isso constituem elementos potencialmente tóxicos e que se acumulam em certos solos devido a actividades humanas.

A tolerância aos metais pesados varia entre indivíduos da mesma espécie e entre espécies. Assim, o milho (*Zea mays* L.) é mais sensível ao cobre que o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (Jones *et al.* 2013).

Metais de transição são definidos como elementos que formam um ou mais íons estáveis, nos quais a orbital *d* está incompletamente preenchida o que lhes confere características químicas específicas. Assim, o Cu, Fe, Mn e Mo existem em vários estados redox o que lhes permite servirem como cofactores em processos de transporte electrónico. A sua toxicidade resulta das alterações nos níveis redox das células levando à acumulação de radicais de oxigénio reactivos (ROS), como o H₂O₂ ou o superóxido O₂⁻ (Jones *et al.*, 2013).

A maior parte das plantas que são fortemente tolerantes a elementos nocivos, conseguem-no restringindo a sua acumulação, limitando a sua absorção e a sua translocação para a parte aérea. No entanto, existem algumas espécies que são capazes de acumular e tolerar teores extremamente elevados de elementos potencialmente tóxicos, são as espécies *hiperacumuladoras*. Conhecem-se mais de 450 espécies de plantas hiperacumuladoras para metais (Zn, Ni, Mn, Cu, Co e Cd), metalóides (arsénio – As) e não metais (selénio – Se). Estas espécies são muito importantes porque podem ser usadas em *biorremediação*, isto é, no recuperar de solos pela remoção dos contaminantes (Jones *et al.*, 2013).

O **alumínio** é o terceiro elemento mais comum na crosta terrestre (8%), a seguir ao oxigénio (47%) e ao silício (28%) e pode representar um factor adverso em agricultura, particularmente em solos ácidos (pH<5) devido à solubilização do alumínio. O alumínio dissolvido a baixo pH existe essencialmente na forma Al³⁺ que é tóxico para as raízes. Os produtos da hidratação do alumínio Al(OH)₂⁺ e Al(OH)₂²⁺ existem de forma predominante a pH próximos da neutralidade e Al(OH)₄⁻ a pH alcalinos (Jones *et al.*, 2013).

O íão Al³⁺ forma complexos com ácidos orgânicos e com fosfato e sulfato inorgânicos. Quando o Al entra numa célula liga-se a estes grupos em proteínas, nucleótidos e outras macromoléculas causando danos fisiológicos.

Existem duas classes de mecanismos de resistência ao alumínio:

1. A *tolerância simplástica* em que o Al entra na célula, mas o metabolismo é capaz de continuar normalmente;
2. A *exclusão* que defende o ápice radicular da exposição ao Al na rizosfera. Um mecanismo de exclusão que as plantas desenvolveram baseia-se no efluxo de aniões orgânicos que se ligam ao Al, quelatizando-o (Jones *et al.*, 2013).

6. A ABSORÇÃO DE SAIS MINERAIS PELAS RAÍZES

6.1. AS RAÍZES ENQUANTO LOCAIS DE ABSORÇÃO DE NUTRIENTES:

6.1.1. O sistema radicular das plantas

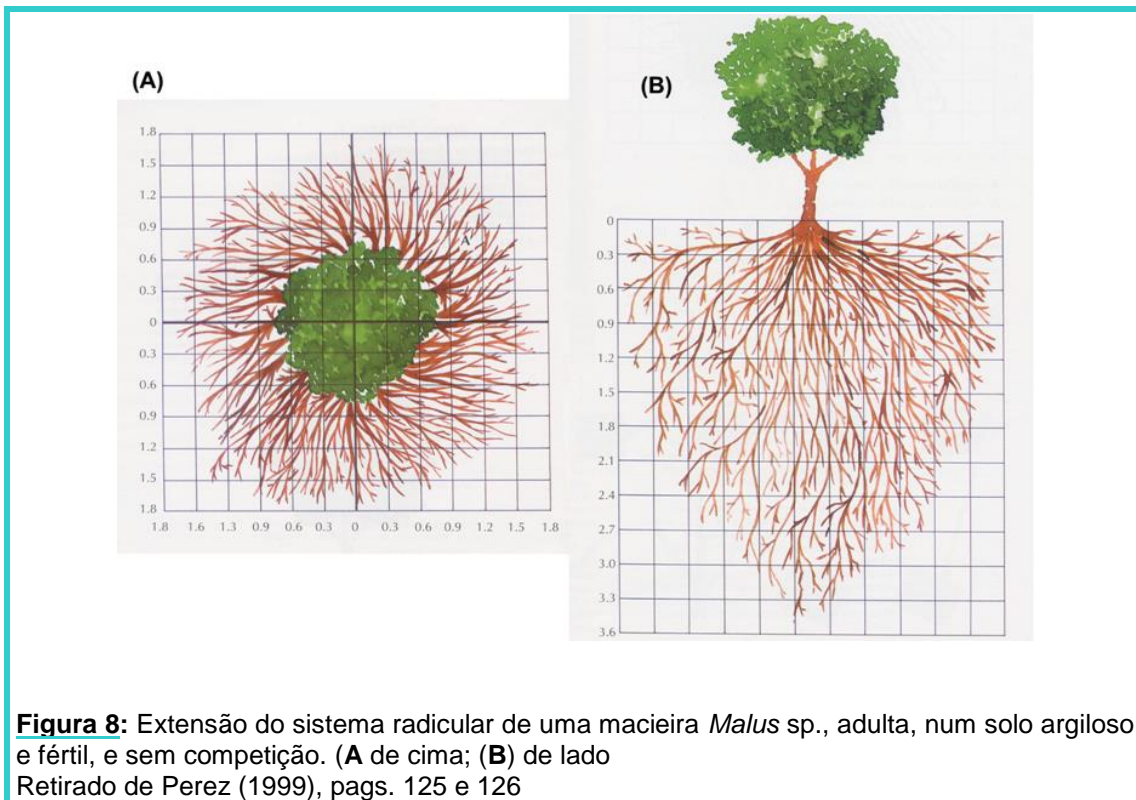
As plantas absorvem do solo água e sais minerais, muitas vezes escassos, graças a um sistema radicular surpreendentemente grande. Embora nalgumas plantas o seu sistema radicular constitua apenas 20 a 50 % do seu peso total, noutras, sobretudo se estiverem sujeitas a stresse de carência hídrica ou de azoto, o sistema radicular pode chegar a atingir 90 % do peso seco. Por outro lado, plantas de trigo desenvolvidas hidroponicamente, desde que disponham de água e azoto em quantidades suficientes, apenas apresentam 3 a 5 % da sua biomassa nas raízes (Salisbury e Ross, 1992).

Nos anos 30, Dittmer (citado por Taiz e Zeiger, 2010) estudou o sistema radicular de uma única planta de centeio (*Secale cereale* L.) e calculou que a planta teria 13 milhões de raízes primárias e laterais que se estenderiam por mais de 500 km em comprimento com uma área de absorção superior a 200 m². Para além disto, a planta teria mais de 10¹⁰ pêlos radiculares que acrescentariam mais 300 m² à superfície de absorção.

O tipo geral do sistema radicular dum planta depende muito mais de factores genéticos que de factores ambientais. Assim, as gramíneas têm um sistema radicular fibroso e altamente ramificado, perto da superfície do solo. Muitas das dicotiledóneas herbáceas perenes têm uma raiz dominante que se pode estender vários metros em profundidade, como é exemplo a raiz de luzerna (*Medicago sativa* L.). No entanto, na maior parte das espécies a raiz dominante é mais pequena, como é exemplo a cenoura (*Daucus carota* L.), ou a beterraba (*Beta vulgaris* L.). Noutras, como o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) e a soja [*Glycine max* (L.)Merr], a raiz principal não se distingue das secundárias (Salisbury e Ross, 1992). Em pomares, o sistema radicular principal de árvore plantadas com 1 m de intervalo pode atingir o comprimento total de 12 a 18 km por árvore (figura 8). Nos ecossistemas naturais a produção de raízes pode ultrapassar facilmente a produção de parte aérea (Taiz e Zeiger, 2010).

Embora o tipo de sistema radicular seja determinado geneticamente, a rizosfera exerce um certo controlo. Por exemplo, se solo está seco, muitas espécies envolvem relativamente mais biomassa no sistema radicular, o que causa um

aumento da relação raiz/parte aérea. O padrão de ramificação das raízes é mais variado que o da parte aérea, uma vez que as raízes crescem essencialmente para onde podem. A resistência mecânica, a temperatura, o arejamento, e a disponibilidade em água e em sais minerais são factores determinantes desse crescimento. Em zonas húmidas e férteis, as raízes proliferam até que a água ou os nutrientes se esgotem. Quando isto acontece as raízes desenvolvem-se em direcção a outras zonas do solo pela formação de novas raízes laterais (figura 9). É de notar que as plantas adaptadas a zonas secas não apresentam necessariamente raízes profundas porque os sistemas radiculares mais superficiais aproveitam melhor chuvas ocasionais. De facto, o sistema radicular de algumas espécies prolifera, quer nas camadas superficiais do solo, quer a grandes profundidades, apresentando entre as duas partes várias ligações, frequentemente não ramificadas (Salisbury e Ross, 1992).

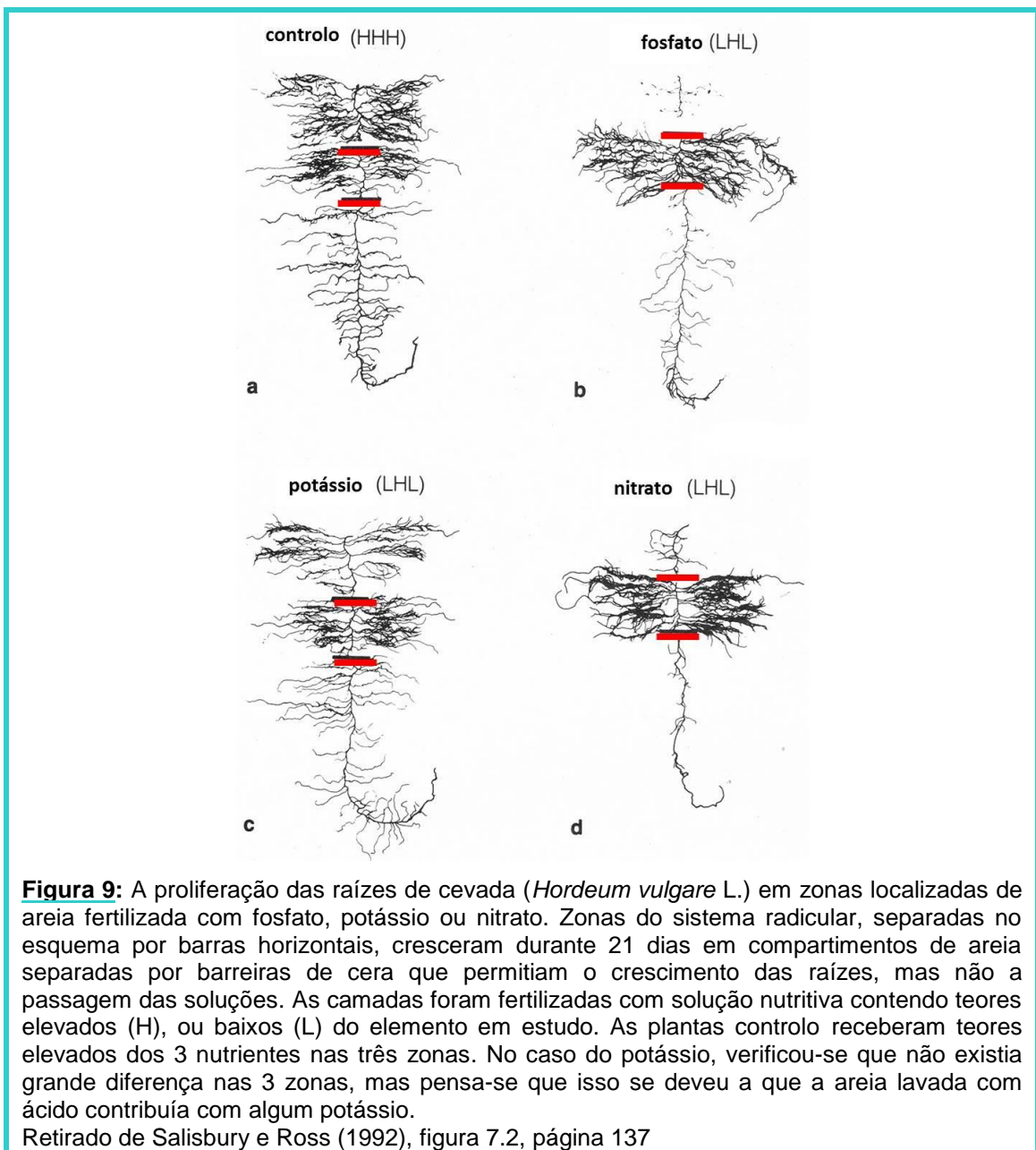


Alguns estudos mostraram que as raízes de culturas anuais crescem apenas durante alguns dias e depois morrem, enquanto as de algumas espécies perenes podem viver um ano ou mais. Alguns arbustos do deserto substituem até um quarto do seu sistema radicular por ano. As gramíneas perenes renovam o seu sistema radicular mais devagar que os arbustos perenes, esta retenção das raízes velhas durante vários anos contribui para a capacidade que as gramíneas têm de evitar a

erosão do solo. Não se sabe ainda muito sobre a longevidade das raízes das árvores, mas alguns trabalhos indicam que um pinheiro bravo (*Pinus sylvestris* L.) com 100 anos de idade apresenta cerca de 5 milhões de ápices radiculares e que um carvalho vermelho adulto (*Quercus rubra* L.) tem cerca de 500 milhões, o que mostra a grande dimensão de tais sistemas radiculares (Salisbury e Ross, 1992).

6.1.2. A estrutura das raízes

A forma das raízes, cilíndrica e filamentososa, é particularmente importante para a absorção de água e solutos do solo. Um cilindro tem mais força por unidade de área de secção transversal que qualquer outra forma. Esta forma e o facto de existir uma coifa protectora ajudam a que as raízes em crescimento afastem as partículas



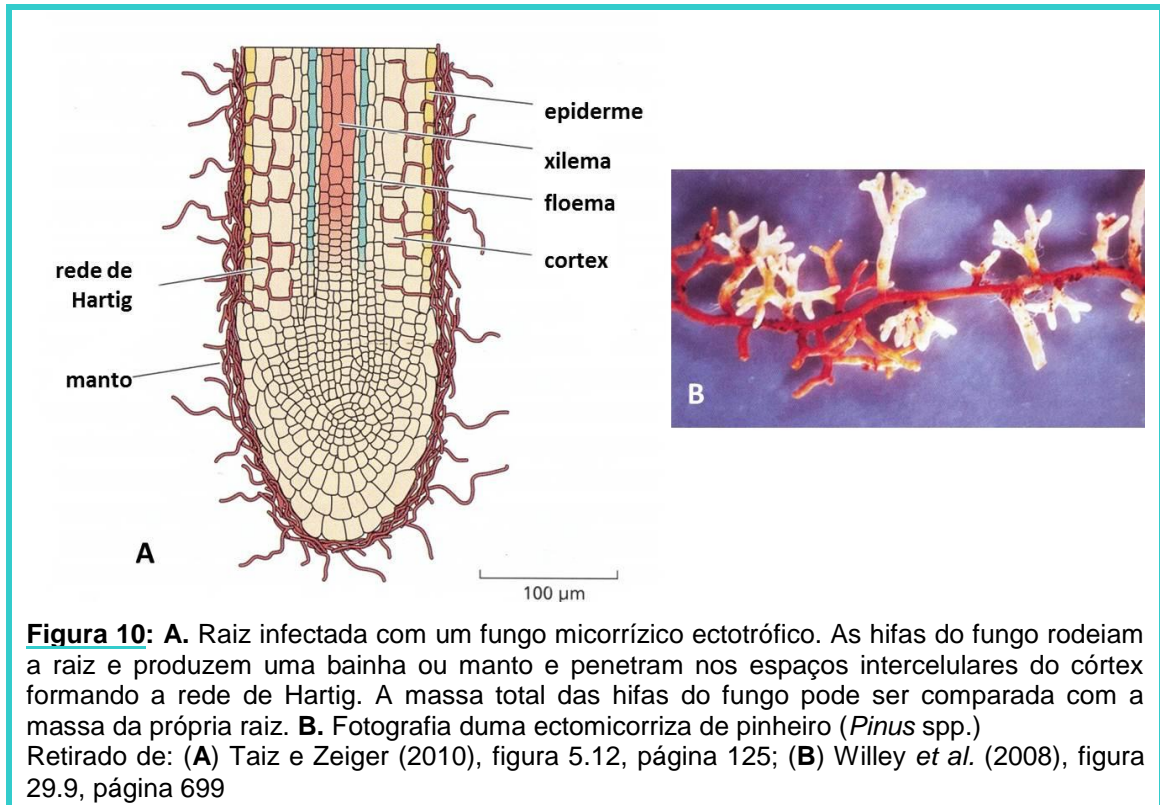
do solo sem quebrarem. A forma filamentosa permite a exploração dum volume de solo por unidade de volume de raiz muito maior que se as raízes fossem, por exemplo, esféricas ou em disco. Os pêlos radiculares aumentam, como já vimos anteriormente, a área de absorção radicular e são por isso muito importantes (Salisbury e Ross, 1992).

Geralmente estudamos a estrutura radicular das plantas desenvolvidas em estufas, mas na natureza as raízes jovens da maioria das espécies têm um aspecto bastante diferente. Isto deve-se a que diferentes fungos presentes no solo natural infectam as raízes e formam **micorrizas**. Uma micorriza é uma associação **simbiótica** e **mutualista** (mutuamente benéfica) entre um fungo que não é, ou é pouco, patogénico e as células vivas das raízes, essencialmente células corticais ou epidérmicas. O fungo recebe nutrientes orgânicos da planta, mas em compensação melhora a capacidade de absorção das raízes em água e em sais minerais. Geralmente só as raízes tenras são infectadas pelo fungo. A produção de pêlos radiculares diminui ou cessa quando se dá a infecção, assim, as micorrizas apresentam muito poucos destes pêlos. No entanto, a área de absorção não diminui, uma vez que o volume de solo penetrado aumenta muito devido às hifas do fungo que se estendem a partir da micorriza. No fundo, as hifas assumem a função de absorção dos pêlos radiculares (Salisbury e Ross, 1992).

Existem dois tipos principais de micorrizas: as **ectomicorrizas** e as **endomicorrizas**, embora por vezes se possa encontrar um grupo, mais raro, com propriedades intermédias, e que são as chamadas **micorrizas ectoendotróficas**.

Nas ectomicorrizas, as hifas formam um manto no exterior e no interior da raiz, nos espaços intercelulares da epiderme e do cortex. Não há penetração para o interior das células, mas forma-se entre as células a chamada **rede de Hartig** (figura 10). As ectomicorrizas são comuns em árvores (Salisbury e Ross, 1992).

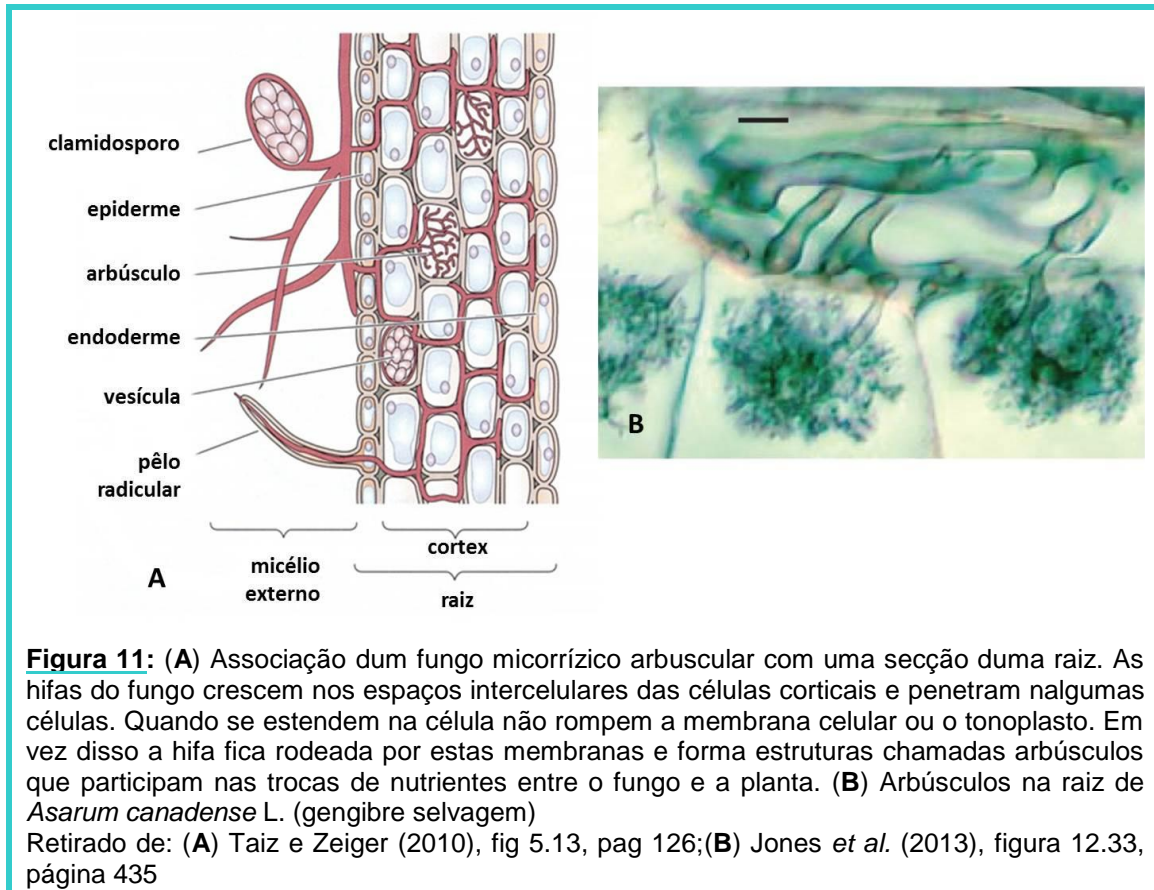
As endomicorrizas dividem-se em três subgrupos, mas o mais comum é o das **micorrizas vesiculares arbusculares - VAM** (figura 11). O fungo presente nas VAM produz uma rede interna de hifas entre as células corticais que se estende para o solo, de modo que as hifas absorvem água e sais minerais. Embora as VAM pareçam penetrar directamente no citosol das células corticais (onde formam estruturas chamadas **vesículas** e **arbúsculos**, que lhes dão o nome), as hifas estão rodeadas por uma invaginação da membrana plasmática das células do córtex. As VAM estão presentes na maioria das angiospérmicas, quer mono quer dicotiledóneas, em culturas anuais ou perenes, em espécies nativas ou introduzidas, e ainda nalgumas gimnospérmicas, fetos e briófitas (Salisbury e Ross, 1992).



Em ambos os tipos de micorrizas, o fungo recebe açúcares da planta hospedeira, e é por essa razão que plantas que crescem em habitats de pouca luz têm poucas micorrizas. O grande benefício para as plantas da existência de micorrizas é o aumento da absorção de iões que se difundem lentamente ou que são necessários em maior quantidade, especialmente H_2PO_4^- , NH_4^+ , K^+ e NO_3^- . As micorrizas oferecem grandes vantagens para as árvores que crescem em solos pouco férteis. De facto, sem a capacidade de absorção das micorrizas, muitas comunidades de árvores não poderiam existir (Salisbury e Ross, 1992).

O desenvolvimento do sistema radicular, quer nas monocotiledóneas, quer nas dicotiledóneas, depende da actividade do meristema apical e dos meristemas que vão originar as raízes laterais. A figura 12 mostra um diagrama dum corte longitudinal da região apical duma raiz com as suas três zonas de actividade: meristemática, de alongamento e maturação.

Na **zona meristemática** as células vão originar para baixo as células da **coifa** e para cima as restantes células da raiz. A coifa protege as células meristemáticas, muito delicadas, à medida que a raiz se expande no solo. Está continuamente a produzir uma substância gelatinosa, o *mucigel* que protege a raiz contra o atrito dos grãos do solo, contra a dessecação, promove a transferência de nutrientes para a raiz e ainda afecta as interações entre a raiz e os microrganismos do solo. A coifa é ainda o local de percepção da gravidade (Taiz e Zeiger, 2010).



No **centro de quiescência** as divisões celulares ocorrem com relativa lentidão. Após algumas gerações de divisões celulares lentas, as células deslocadas do ápice em cerca de 0,1 mm começam a dividir-se mais rapidamente. A cerca 0,4 mm as divisões tornam-se, de novo, mais lentas e as células expandem-se em todas as direcções (Taiz e Zeiger, 2010).

A **zona de alongamento** começa a aproximadamente 0,7 – 1,5 mm de distância do ápice. Nesta zona as células alongam-se rapidamente e sofrem uma última série de divisões que origina um anel de células chamado **endoderme**. As paredes destas células tornam-se mais espessas e deposita-se suberina nas paredes transversais e radiais formando a **banda de Caspary** que é uma estrutura hidrofóbica que evita o movimento apoplástico⁵ radial da água e solutos na raiz (Taiz e Zeiger, 2010). A endoderme separa o córtex do cilindro central onde estão os tecidos vasculares: **xilema** que transporta essencialmente água e sais minerais para a parte aérea, e **floema** que transporta metabolitos das zonas de produção para as de consumo (Taiz e Zeiger, 2010).

⁵ **Apoplasto** é o conjunto das paredes celulares, espaços intercelulares e xilema. O **movimento apoplástico** é o movimento de água e sais minerais que se realiza exclusivamente pelo apoplasto sem nunca atravessar uma membrana celular (Taiz e Zeiger, 2010)

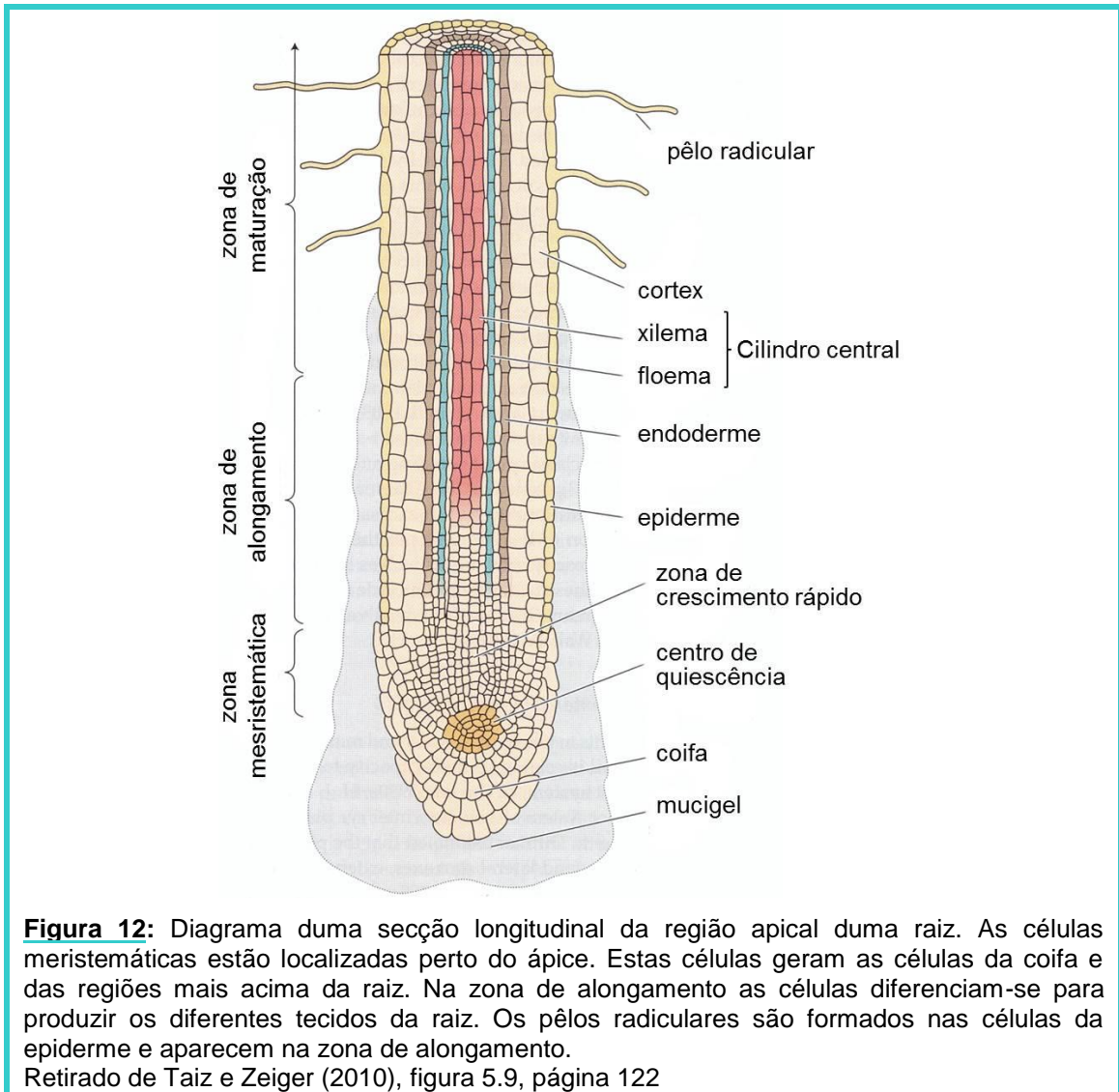


Figura 12: Diagrama duma secção longitudinal da região apical duma raiz. As células meristemáticas estão localizadas perto do ápice. Estas células geram as células da coifa e das regiões mais acima da raiz. Na zona de alongamento as células diferenciam-se para produzir os diferentes tecidos da raiz. Os pêlos radiculares são formados nas células da epiderme e aparecem na zona de alongamento. Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 5.9, página 122

O floema desenvolve-se mais rapidamente que o xilema, o que se pode explicar pelo facto do funcionamento do floema perto do ápice ser fundamental. Grandes quantidades de carboidratos têm de se deslocar pelo floema para fornecer energia e esqueletos de carbono às células em rápida divisão e alongamento. No ápice, onde o floema ainda não se diferenciou, o movimento dos carboidratos depende da difusão simplástica⁶ e é por isso lento. Pode pensar-se que a baixa taxa de multiplicação celular na zona se deve em parte à dificuldade de acesso dos carboidratos (Taiz e Zeiger, 2010).

⁶ **Simplasto** é o sistema contínuo de todos os citoplasmas das células conectados por plasmodesmos. O **movimento simplástico** é o movimento de solutos, orgânicos e inorgânicos através do simplasto.

6.1.3. A absorção desigual dos nutrientes ao longo da raiz

O local exacto de entrada dos minerais na raiz é discutível. Alguns autores pretendem que os nutrientes são absorvidos exclusivamente nas zonas apicais das raízes, enquanto outros consideram que os nutrientes são absorvidos ao longo de toda a superfície da raiz. Segundo Taiz e Zeiger (2010) existem dados que apoiam ambas as pretensões. A figura 13 mostra-nos a absorção de três nutrientes nos 10 primeiros centímetros duma raiz.

As elevadas taxas de absorção de nutrientes no ápice resultam da grande necessidade em nutrientes destes tecidos e da disponibilidade no solo à sua volta. Por exemplo, o alongamento celular necessita de acumular solutos tais como potássio, cloro e nitrato para aumentar a turgidez das células necessária ao crescimento (Taiz e Zeiger, 2010).

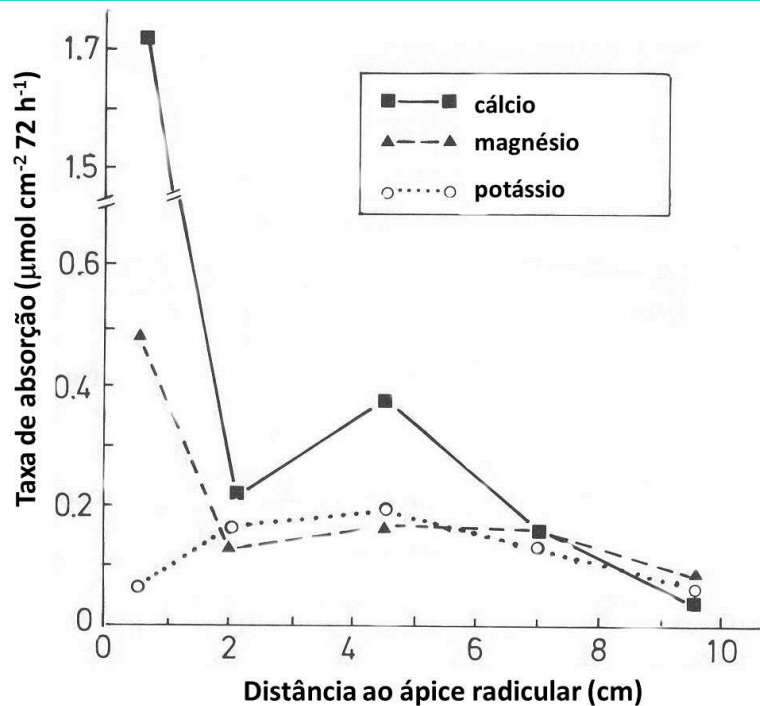


Figura 13: Taxas de absorção de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K) nos 10 primeiros centímetros de uma raiz não micorrizada de abeto da Noruega (*Picea abies* Mill). Retirado de Marschner (1991), figura 4, página 130

6.1.4. A disponibilidade em nutrientes e a razão raiz:parte aérea

Para a aquisição de nutrientes minerais de fraca movimentação no solo, como é o caso do fósforo, o crescimento da raiz e o aumento da área de absorção são fundamentais. Como já vimos anteriormente, o tipo de sistema radicular é determinado geneticamente, mas a rizosfera exerce um certo controlo. Assim, quando a disponibilidade num nutriente é insuficiente, o crescimento da raiz e da

área de absorção aumentam a expensas da parte aérea (tabela 5). Quando há limitação na disponibilidade de nutrientes minerais, um dos factores que regulam a mudança de crescimento da raiz e da parte aérea é o aumento da competição da raiz para os fotoassimilados (Marschner, 1991). No trigo, quando a disponibilidade em fósforo diminui, a razão entre o peso seco da raiz e o da parte aérea pode aumentar de 0,3 a 4. Assim, a *função de exploração* do solo representa o principal consumo de energia no processo de absorção de nutrientes, sendo muito maior que o custo do transporte através das membranas (Morot-Gaudry, 2009).

Tabela 5: Efeito de carência em fósforo (P) nalguns parâmetros de crescimento da raiz e da parte aérea de plântulas de milho com 12 dias. Retirado de Marschner (1991), tabela 1, página 126

Nº dias sem P	Parte Aérea		Sistema Radicular		
	Peso seco (g vaso ⁻¹)	P (%)	Peso seco (g vaso ⁻¹)	Comprimento (m vaso ⁻¹)	Raio (x 10 ² cm ⁻¹)
1	2,10	0,95	0,27	4,64	2,27
2	2,34	0,65	0,31	5,77	2,23
4	1,93	0,32	0,40	7,57	1,99
6	1,65	0,27	0,43	9,08	1,84

6.2. O MOVIMENTO DOS IÕES PARA O INTERIOR DA RAIZ:

6.2.1. O movimento dos nutrientes no solo

Os elementos minerais libertados a partir da fase sólida do solo para a fase líquida constituem os iões que se encontram na **solução do solo**. Para ser absorvido por uma raiz o nutriente tem de estar na sua forma iónica na solução do solo, pois a raiz não consegue absorver os nutrientes adsorvidos na superfície de uma partícula de solo, mesmo que a raiz esteja em contacto físico com ela. A concentração de iões na solução está em equilíbrio com a fase sólida. Assim, se um ião é absorvido por uma raiz da solução do solo, outro é libertado da fase sólida mantendo o equilíbrio (Jones, 2012).

Os iões aproximam-se da raiz por três processos:

1. **Difusão:** A difusão dos iões aumenta com o aumentar da humidade do solo. Quanto mais seco estiver o solo menor é o volume de água por onde a difusão ocorre e assim, menor é o movimento por difusão dos iões. Para além da humidade a difusão dos iões é afectada pela temperatura e pelo conteúdo em colóides (Sebanek, 1992). Este movimento mede-se em milímetros (Jones, 2012)

2. **Fluxo em massa:** que ocorre quando a água se move dentro do solo transportando os iões dissolvidos. Por exemplo, o cálcio (Ca^{2+}) e o nitrato (NO_3^-) movem-se no solo essencialmente por fluxo em massa. Estes iões podem ser transportados em grandes distâncias deste modo. No entanto, se a humidade do solo for baixa este processo será fortemente prejudicado. Para além disso, a água de drenada do solo pode levar os iões para fora da zona radicular. O movimento da água no solo pode ocorrer em três direcções: 1. para baixo, ao longo do perfil do solo, devido à água da chuva ou de irrigação; 2. Para cima, ao longo do perfil do solo, devido à evaporação da água à superfície do solo; 3. Lateralmente, dentro do perfil do solo (Jones, 2012). O fluxo em massa induzido pela transpiração não está normalmente relacionado com a absorção iónica. (Sebanek, 1992).

3. **Intercepção pela raiz:** que ocorre quando a raiz se expande no solo, aumentando a superfície de contacto da raiz com as partículas do solo e a solução à sua volta (Jones, 2012).

Quando a absorção dum nutriente pela raiz é elevada e a concentração nesse nutriente no solo é baixa, o fluxo em massa apenas fornece uma fracção pequena da necessidade total no nutriente. Nestas condições, a difusão limita o movimento do nutriente para a superfície da raiz. Quando a difusão é demasiado lenta para manter concentrações elevadas em nutrientes junto à raiz, forma-se uma *zona de depleção de nutrientes* adjacente a superfície da raiz (figura 14). Esta zona estende-se de 0,2 a 2,0 mm da superfície da raiz, dependendo da mobilidade do nutriente no solo (Taiz e Zeiger, 2010).

Devido à raiz das plantas causar a depleção em nutrientes da rizosfera, a sua capacidade de extrair nutrientes está dependente não apenas da taxa a que retiram os nutrientes da solução do solo, mas também da sua capacidade para crescerem continuamente. Sem o crescimento, as raízes causariam rapidamente a depleção do solo à sua volta. Assim, a aquisição óptima de nutrientes está dependente não só da capacidade do sistema radicular absorver os nutrientes, mas também de sua capacidade de crescer para outra parte do solo (Taiz e Zeiger, 2010).

6.2.2. O movimento do solo para o interior da rizoderme

O movimento dos catiões para o interior das células da *rizoderme* (epiderme da raiz) inicia-se pela sua **adsorção** às paredes das células (figura 15). Nestas, os polissacáridos apresentam cargas negativas que atraem os H^+ provenientes do

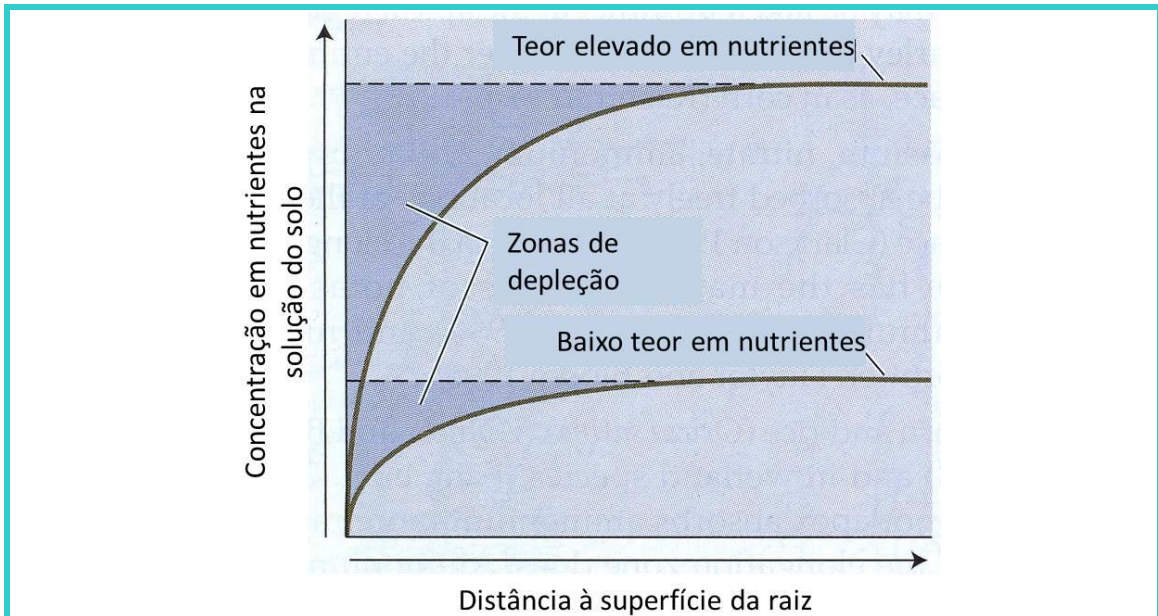


Figura 14: Formação da zona de depleção de nutrientes na região do solo adjacente à raiz da planta. Esta zona forma-se quando a taxa de absorção dos nutrientes pelas células da raiz excede a taxa de substituição dos nutrientes por fluxo em massa e por difusão na solução do solo. Esta depleção causa uma diminuição da concentração em nutrientes na área adjacente à superfície da raiz.

Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 5.10, página 124

exterior das células por acção das bombas protónicas. Estes H^+ ficam acessíveis para serem permutados pelos “catiões de troca” da solução do solo que ficam assim electrostaticamente ligados às paredes das células. Os locais de ligação não se encontram apenas nas superfícies exteriores, mas também nos espaços capilares dentro das paredes celulares. Os aniões têm poucos locais de adsorção nas paredes celulares. O seu movimento nas paredes das células é por difusão nos espaços capilares preenchidos com água. (Öpik e Rolfe, 2005)

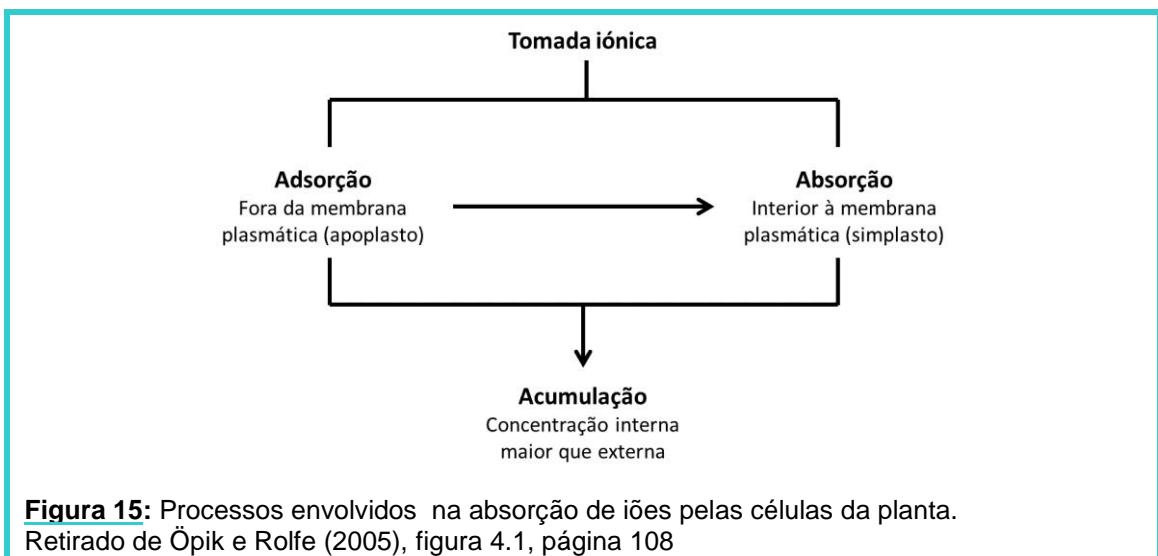


Figura 15: Processos envolvidos na absorção de iões pelas células da planta. Retirado de Öpik e Rolfe (2005), figura 4.1, página 108

À adsorção dos íons segue-se a **absorção** propriamente dita, isto é, a passagem dos íons através da membrana plasmática. Quando os íons são absorvidos em quantidades tais que a sua concentração se torna superior no interior da célula em relação ao exterior, falamos em **acumulação** (Öpik e Rolfe, 2005). Falaremos com mais detalhe deste processo na 2ª parte destes apontamentos.

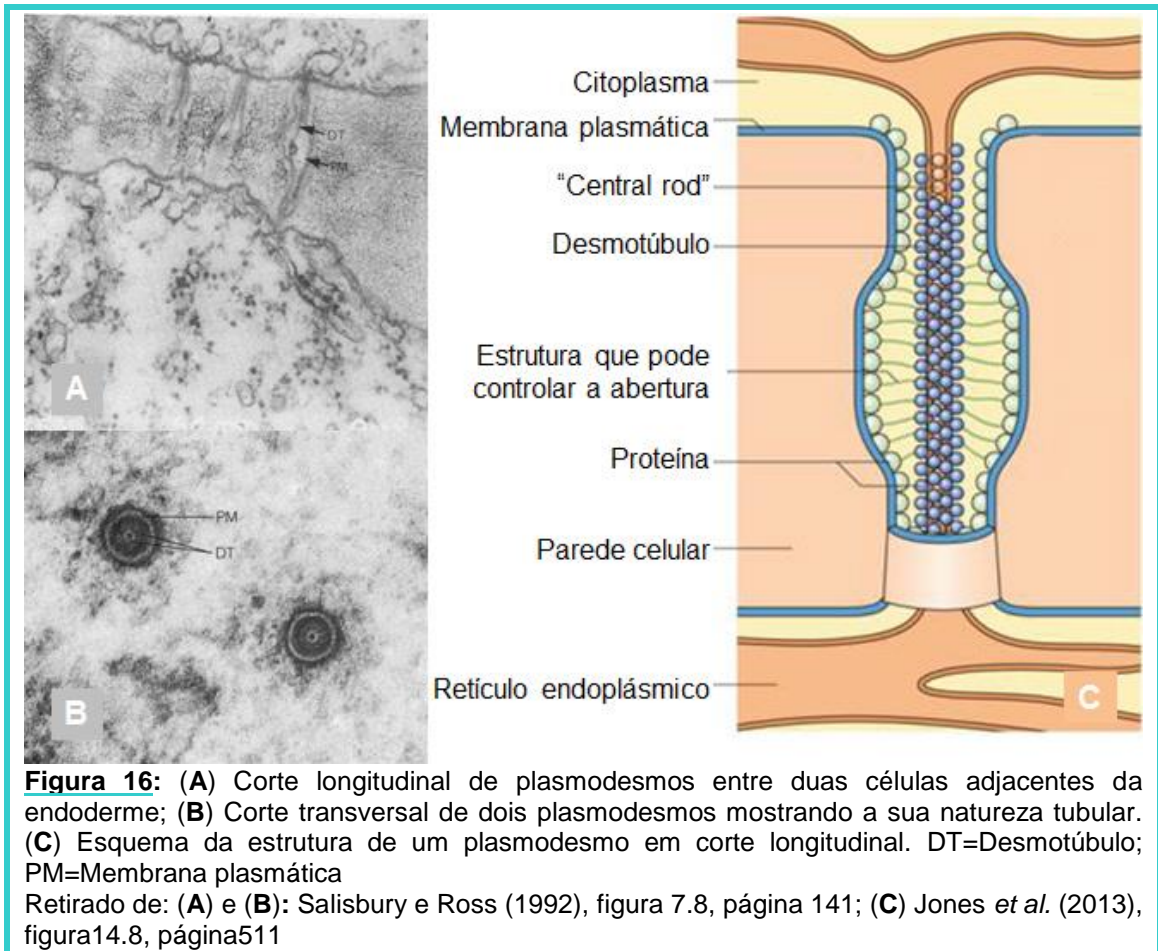
6.2.3. O movimento da rizoderme para o interior do xilema

Quer a tomada inicial de nutrientes e água, quer o seu movimento desde a rizoderme, através do córtex, até ao interior do xilema são processos muito específicos e altamente regulados que veremos na segunda parte destes apontamentos. No entanto, a anatomia das raízes impõe alguns constrangimentos ao movimento dos íons.

Em termos de transporte de pequenas moléculas, as paredes celulares são uma rede aberta de polissacáridos através da qual os nutrientes minerais se difundem facilmente. Como todas as células vegetais têm paredes celulares, os íons podem difundir-se num tecido, ou ser levados por fluxo em massa, pelas paredes das células e espaços intercelulares sem nunca entrarem no interior duma célula. Este contínuo de paredes de células, espaços intercelulares e xilema tem o nome de **apoplasto**. O volume das paredes celulares é de 5 a 20% do volume dum tecido vegetal (Taiz e Zeiger, 2010). A via apoplástica apresenta pouca resistência ao movimento de numerosas substâncias. No entanto, as propriedades físico-químicas da parede, a sua capacidade de troca iónica, as características hidrofóbicas de alguns componentes como a suberina, criam condições de transporte ou de retenção para cada ião. Assim, a parede apresenta pouca resistência ao movimento de íons móveis como o potássio, o cloro, o nitrato e o fosfato. Em contrapartida íons como o cálcio, o cobre e o alumínio podem fixar-se fortemente e imobilizar-se nas cargas electronegativas das hemiceluloses e compostos pécticos das paredes (Morot-Gaudry, 2009).

Assim como as paredes das células formam um contínuo, também os citoplasmas de células contíguas estão ligados entre si formando outro contínuo que tem o nome de **simplast**. Estas ligações entre citoplasmas são estabelecidos por umas estruturas chamadas **plasmodesmos** (figura 16). Estes proporcionam conexões de alta resistência entre praticamente todas as células vivas de uma planta. A frequência com que ocorrem plasmodesmos varia entre 0,1 a 10 por μm^2 . Uma das características comuns a todos os plasmodesmos é um tubo formado pela continuidade da membrana plasmática entre duas células adjacentes. Dentro deste

tubo está um cordão de retículo endoplasmático chamado **desmotúbulo**, no centro do qual está uma haste central (em inglês “central rod”). Entre o desmotúbulo e a membrana plasmática encontra-se uma manga citoplásmica (Jones *et al.*, 2013). A via simplástica permite a circulação de íões de célula para célula do mesmo tecido sem que tenham de atravessar mais membranas. No citosol a difusão e os movimentos de ciclose são suficientes para assegurarem o transporte de íões (Morot-Gaudry, 2009).



Os sais essenciais e não essenciais são transportados a partir da solução do solo para o *simplasto da raiz* atravessando a membrana plasmática duma célula da epiderme, ou para o *apoplasto da raiz* movimentando-se pelas paredes celulares. A via apoplástica estende-se desde desde os pêlos radiculares ou outras células epidérmicas até à **endoderme**, onde a **banda de Caspary**, impermeável, obriga as substâncias a atravessarem as membranas plasmáticas, ou seja a passarem para a via simplástica (figura 17). Assim, as membranas plasmáticas das células da endoderme representam o ponto de controlo final da entrada de solutos na raiz (Salisbury e Ross, 1992).

É possível que uma quantidade limitada de íons se possa movimentar exclusivamente por via apoplástica, pelo menos em certas raízes. Células mais basais da endoderme (mais afastadas do ápice) – a distância é variável, mas sempre na ordem dos centímetros – são caracterizadas por uma deposição adicional de suberina que cobre totalmente as paredes radiais e tangenciais interiores (endoderme em U). Isto representa uma barreira adicional ao movimento apoplástico. No entanto, nalgumas espécies um pequeno número de células da endoderme, chamadas *células de passagem*, não são suberificadas. Nestes casos, estas células representam o ponto de entrada principal no cilindro central (Hopkins e Hüner, 2009).

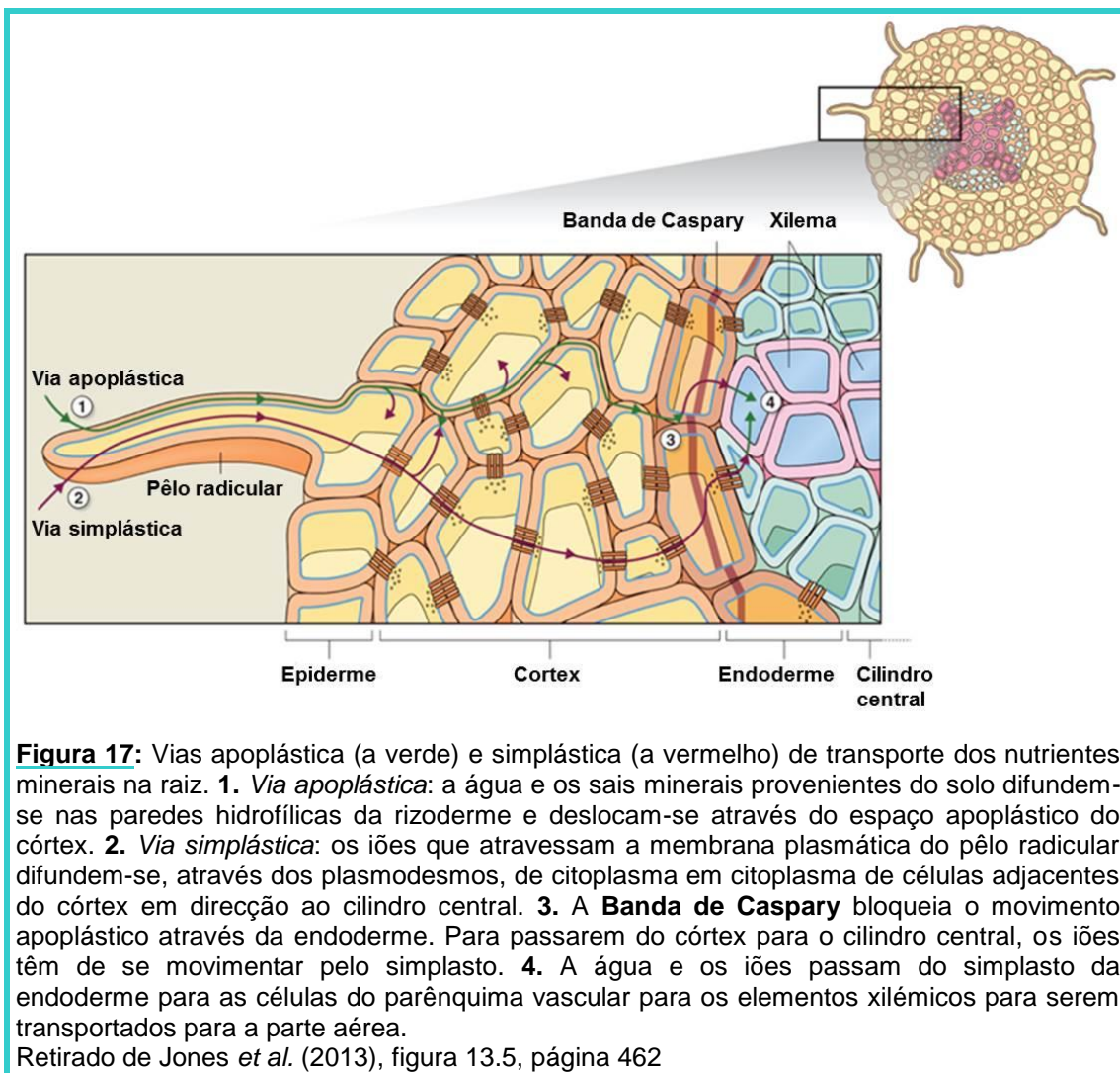


Figura 17: Vias apoplástica (a verde) e simplástica (a vermelho) de transporte dos nutrientes minerais na raiz. **1.** *Via apoplástica:* a água e os sais minerais provenientes do solo difundem-se nas paredes hidrofílicas da rizoderme e deslocam-se através do espaço apoplástico do córtex. **2.** *Via simplástica:* os íons que atravessam a membrana plasmática do pêlo radicular difundem-se, através dos plasmodesmos, de citoplasma em citoplasma de células adjacentes do córtex em direcção ao cilindro central. **3.** A **Banda de Caspary** bloqueia o movimento apoplástico através da endoderme. Para passarem do córtex para o cilindro central, os íons têm de se movimentar pelo simplasto. **4.** A água e os íons passam do simplasto da endoderme para as células do parênquima vascular para os elementos xilémicos para serem transportados para a parte aérea.

Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 13.5, página 462

Também os locais de formação de raízes secundárias representam uma alteração ao movimento normal de nutrientes na raiz. Com efeito, as raízes secundárias têm origem no *periciclo* que é uma camada de células imediatamente interior à endoderme. Assim, a emergência de uma raiz secundária através da

endoderme quebra a continuidade da banda de Caspary permitindo, pelo menos temporariamente, que haja uma continuidade apoplástica entre o córtex e o cilindro central (Hopkins e Hüner, 1992).

Há que ter em conta que as raízes de muitas espécies de angiospérmicas apresentam outra banda de Caspary, na hipoderme (NOTA: alguns autores consideram que uma hipoderme com bandas de Caspary constitui uma **exoderme**). Esta banda de Caspary desenvolve-se mais afastada do ápice radicular, cerca de 12 cm acima da que se encontra na endoderme. Deste modo, pode existir em zonas mais velhas que ainda não tenham perdido as suas células exteriores. Esta exoderme restringe o movimento de corantes e iões sulfato, pelo que deve representar um ponto de controlo importante que obriga solutos vindos do exterior, a passar pela membrana plasmática das suas células. Uma vez no citosol da exoderme, os iões podem mover-se para o xilema, de célula em célula, por via simplástica (Salisbury e Ross, 1992).

Independentemente da via utilizada na raiz, os iões para serem transportados verticalmente para a parte aérea têm, em primeiro lugar, de entrar para as células mortas do xilema. Com excepção do ápice da raiz onde os vasos xilémicos ainda não estão maduros, o xilema funcional é parte do *apoplasto*. Os vários vasos xilémicos ligados entre si não têm citoplasma, são autênticos “tubos” preenchidos com uma solução aquosa. Assim, para que haja libertação de iões no xilema estes têm de sair do simplasto e passar para o apoplasto. É hoje claro que os iões são activamente secretados a partir das células do parênquima xilémico. Há dados que apontam para que a concentração em iões no cilindro central é muito mais elevado que no córtex. Isto sugere que os iões estão a ser acumulados no xilema contra um gradiente de concentrações, presumivelmente por um processo dependente da energia envolvendo transportadores proteicos. A banda de Caspary evita também que os iões que se encontram no apoplasto do cilindro central voltem para o solo. Podemos, por isso pensar que é a banda de Caspary que permite uma concentração em iões mais elevada no xilema que no solo (Hopkins e Hüner, 2009).

Dados obtidos com inibidores da respiração (especialmente os que inibem a formação de ATP), indicam que a transferência para os elementos condutores do xilema exige energia metabólica e formação de ATP. De notar que o transporte iónico para o interior do xilema é sensível à cicloheximida, um inibidor da síntese de proteínas, no entanto, a absorção pela rizoderme não é afectada! Também as fitohormonas ácido abscísico (ABA) e citocininas (CK) têm um efeito semelhante (Hopkins e Hüner, 2009).

Não sabemos, ainda, se os inibidores de síntese proteica ou as fitohormonas têm um efeito inibidor no transporte através da endoderme, ou se afectam o descarregar dos iões da endoderme para o interior do xilema. No entanto, permitem já perceber que o processo da passagem para o xilema é diferente da absorção pela rizoderme (Hopkins e Hüner, 2009).

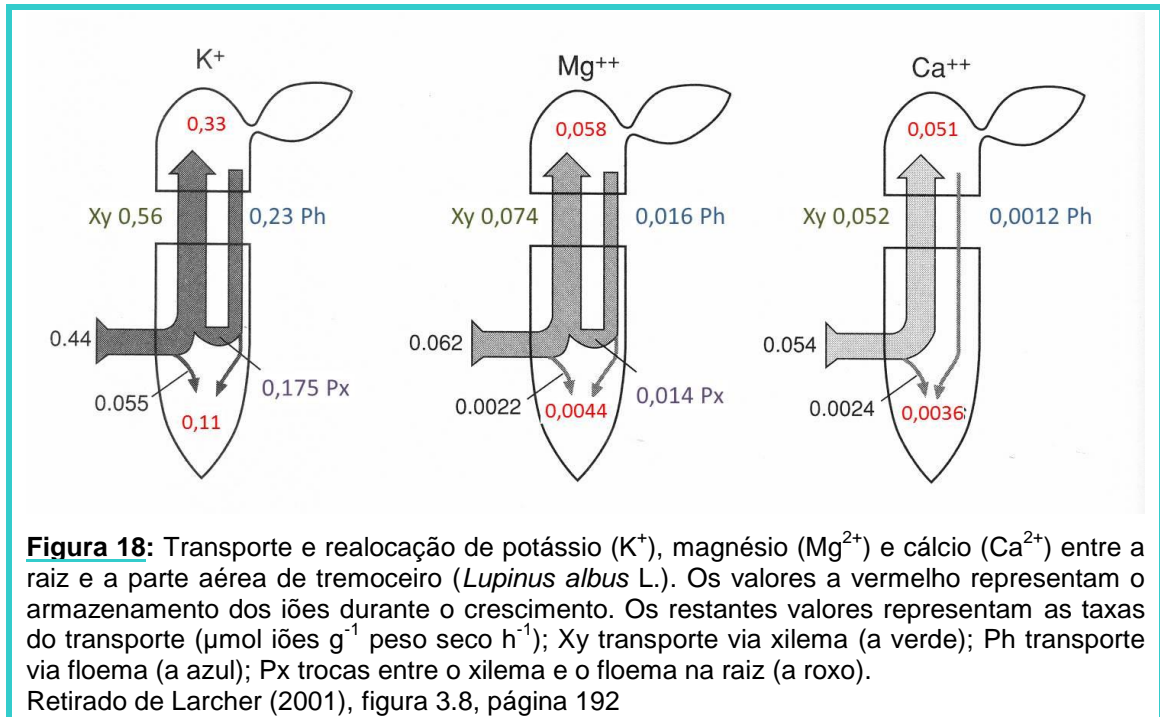
6.3. O TRANSPORTE AXIAL DE NUTRIENTES:

Duma maneira geral, o movimento a grande distância desde as raízes para as partes em crescimento, é feito pelos vasos mortos do xilema. O movimento descendente ocorre nas células vivas do floema (figura 18). A força motriz para o movimento de água, iões e outros solutos neste sistema vascular complexo vem de fontes diferentes (Jones, 2012):

1. *Transpiração* que puxa a água e os solutos para o interior da raiz e para a parte aérea;
2. *Pressão radicular* que empurra a água e os solutos para a parte aérea;
3. Relação *fonte-utilização* (“source-sink”) que leva a água, iões e foto-assimilados para as partes da planta em expansão (zonas em crescimento, frutos, sementes, etc.).

O movimento de iões, moléculas e outros solutos no xilema é determinado, em certa medida, pelo fluxo transpiracional que, por sua vez, tem um efeito na distribuição destes compostos nos caules, pecíolos, folhas e frutos. Além disto, o movimento destes compostos não é uniforme em termos de tipos de solutos e taxas a que ocorre o seu transporte. Por exemplo, a transpiração aumenta a absorção e translocação de moléculas não carregadas mais do que para os iões (Jones, 2012).

O movimento dos solutos é *unidireccional* no xilema, mas *bidireccional* no floema – da fonte para os locais de consumo. Pensa-se que haja transferência do xilema para o floema, mas que não haja do floema para o xilema. Há também uma re-translocação de nutrientes minerais da parte aérea para as raízes que tem um efeito regulador na taxa de absorção pelas raízes. Podemos pensar que o movimento de iões, moléculas, outros solutos e água ocorre num sistema de feixes e células complexo, em que os factores exógenos e endógenos têm um papel importante a desempenhar. A redistribuição dos vários compostos, sejam simples iões, carboidratos, amino ácidos e proteínas resultantes da actividade fotossintética, é, assim, altamente complexa, sendo regulada por muitos factores que interagem entre si (Jones, 2012).



6.4. OS FACTORES QUE AFECTAM A ABSORÇÃO DOS NUTRIENTES

6.4.1. A fotossíntese:

A relação que existe entre a fotossíntese e a nutrição pode ser considerada sob dois aspectos: por um lado o efeito que a fotossíntese tem na nutrição, ou por outro lado o efeito que a nutrição mineral tem na actividade do aparelho fotossintético. É importante ter sempre presente os efeitos mútuos dos dois processos.

A fotossíntese e a nutrição mineral são dois aspectos da nutrição dos vegetais. O azoto, o fósforo, o enxofre e o magnésio são necessários para a formação do aparelho fotossintético. O ferro, o potássio e o cloro afectam a acumulação da clorofila e, assim, afectam igualmente a fotossíntese. O azoto, o potássio, o fósforo, o ferro, o zinco e o cobre afectam de forma directa a taxa de fotossíntese (Sebanek, 1992).

6.4.2. A respiração:

Em experiências realizadas durante os anos 50, verificou-se que compostos como o 2,4-dinitrofenol, que são agentes desacopladores, isto é, compostos que inibem a acção das ATPases nas membranas das mitocôndrias, não só inibiam a formação de ATP, mas também a absorção de sais minerais. Actualmente, sabe-

se que a absorção e transporte de nutrientes depende da intensidade com que ocorre a fosforilação oxidativa. Na figura 19 podemos ver a influência da concentração de oxigénio na absorção de fósforo.

6.4.3. O potencial hídrico (Ψ_w) do solo:

A absorção de nutrientes minerais é afectada pelo potencial hídrico do solo. Se este diminui, o potencial hídrico da parte aérea da planta também diminui o que leva a uma diminuição do metabolismo energético e do crescimento da planta. O potencial hídrico do solo é composto pelo potencial mátrico das partículas coloidais e das estruturas do solo, e pelo potencial osmótico da solução do solo que, depende do seu conteúdo em sais dissolvidos. Quanto mais elevado for o seu valor absoluto mais nutrientes existem para a planta, mas mais negativo fica o potencial hídrico total, o que afecta desfavoravelmente o crescimento da planta (Sebanek, 1992).

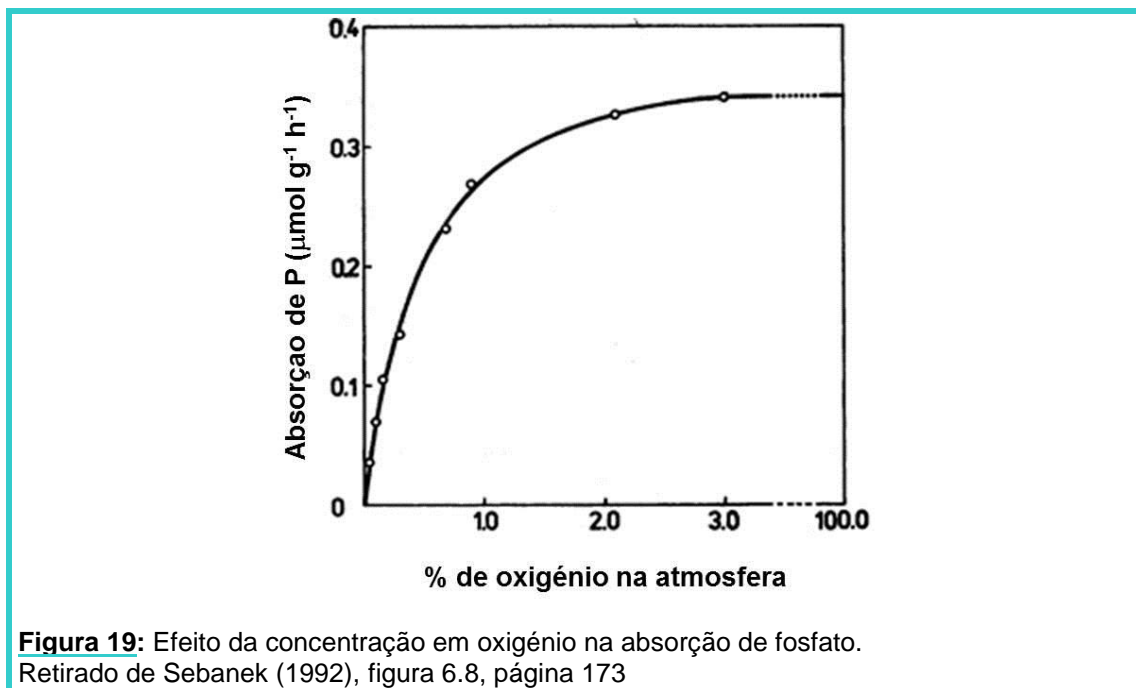


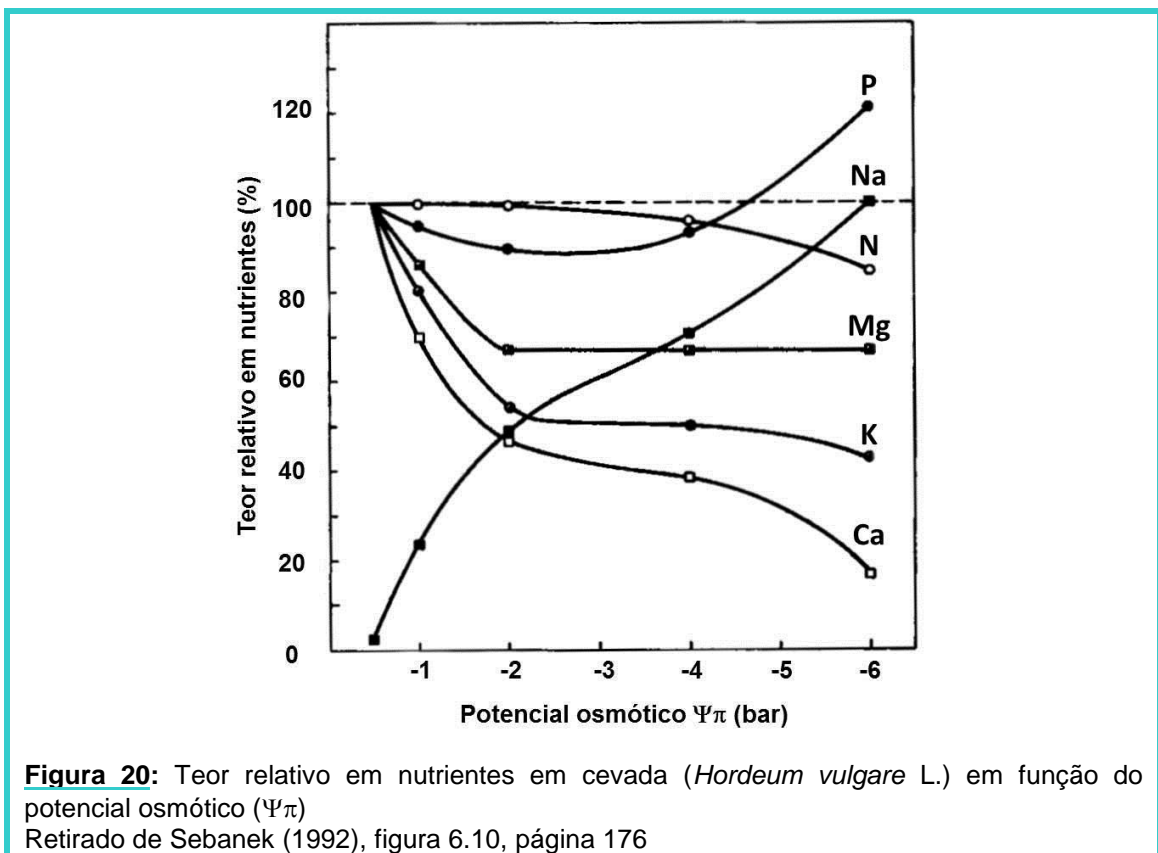
Figura 19: Efeito da concentração em oxigénio na absorção de fosfato. Retirado de Sebanek (1992), figura 6.8, página 173

Atendendo a estes efeitos antagónicos é evidente que existe uma concentração óptima de nutrientes no solo para a qual o crescimento das plantas será máximo. É difícil estudar os efeitos da variação do potencial hídrico no solo, pelo que este tipo de estudos é realizado em soluções nutritivas utilizando substâncias osmoticamente activas, mas não absorvidas pelas plantas, como por exemplo, o PEG 600 (Sebanek, 1992).

Experiências com cevada (*Hordeum vulgare* L.) revelaram que, com o diminuir do potencial osmótico da solução nutritiva, a absorção dos nutrientes diminui consi-

deravelmente, com exceção do fósforo e do sódio (figura 20). Esta diminuição não é causada por um “efeito de diluição” (ver página 17) porque o peso seco não aumenta, mas antes diminui (Sebanek, 1992).

A diminuição da absorção dos vários elementos apresenta diferenças quer no modo como essa diminuição se realiza, quer no valor final. Assim, é de esperar que à medida que o potencial osmótico da solução nutritiva diminui, a relação entre os vários nutrientes na planta também se altera. Para valores do potencial osmótico perto de -0.4 MPa, há uma diminuição clara da absorção de azoto, potássio e cálcio, e por outro lado um aumento da absorção de sódio e fósforo. É difícil explicar este aumento da absorção de fósforo com o diminuir do potencial osmótico da solução nutritiva, particularmente porque se obtiveram resultados semelhantes no campo, com a absorção de fósforo a aumentar durante um período de seca. Este aumento poderia ser explicado pelo maior consumo de energia necessária para retirar água a partir do solo, e conseqüente aumento do consumo de fósforo que é um elemento fundamental no metabolismo energético (Sebanek, 1992). Resultados semelhantes para o fósforo e o azoto foram obtidos por Sacala *et al.* (2008) com pepino (*Cucumis sativus* L.).



6.4.4. A disponibilidade de nutrientes no solo:

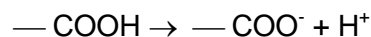
Os nutrientes minerais ocorrem no solo quer dissolvidos na água, quer ligados a partículas do solo. No entanto, só uma pequena parte (<0,2%) está dissolvido na solução do solo. A maior parte (quase 98%) ou está ligada a detritos orgânicos – o **húmus** – e a partículas inorgânicas insolúveis, ou está incorporado nos minerais, constituindo as reservas do solo. Os restantes 2% estão adsorvidos nos colóides do solo. A solução do solo, os colóides e as reservas minerais do solo estão num estado de equilíbrio dinâmico que garante a reposição dos nutrientes (Larcher, 2001).

As partículas minerais são constituídas por areias, limo e argila, que são formadas por sílica, oxigénio e alumínio. Na maioria dos solos as partículas de argila são as mais importantes, formando parte dos colóides do solo (Salisbury e Ross, 1992).

A função dos colóides como reserva de nutrientes é devida a dois factores:

1. os colóides apresentam uma elevada superfície específica (razão área/massa);
2. os colóides apresentam um elevado número de cargas na sua superfície.

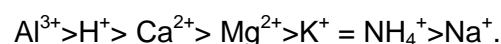
A argila coloidal consiste essencialmente em silicatos de alumínio. As cargas negativas aparecem devido à ionização da alumina (óxido de alumínio – Al_2O_3) ou da sílica (óxido de silício – SiO_2). Do mesmo modo os colóides orgânicos apresentam cargas negativas resultantes de grupo carboxilo ionizados:



assim como grupos hidroxilo $—OH \rightarrow —O^- + H^+$

provenientes de compostos fenólicos presentes na lenhina e carboidratos da parede em decomposição (Salisbury e Ross, 1992 e Hopkins e Hüner, 2009). Quer os colóides de argila, quer os orgânicos têm cargas essencialmente negativas, pelo que atraem essencialmente catiões. No entanto, também existem alguns locais carregados positivamente onde os aniões se podem acumular (Larcher, 2001).

A associação de catiões com as cargas negativas das superfícies coloidais depende de interações electrostáticas podendo estabelecer-se uma série que reflecte a afinidade desta interacção. É a chamada **série liotrópica**:



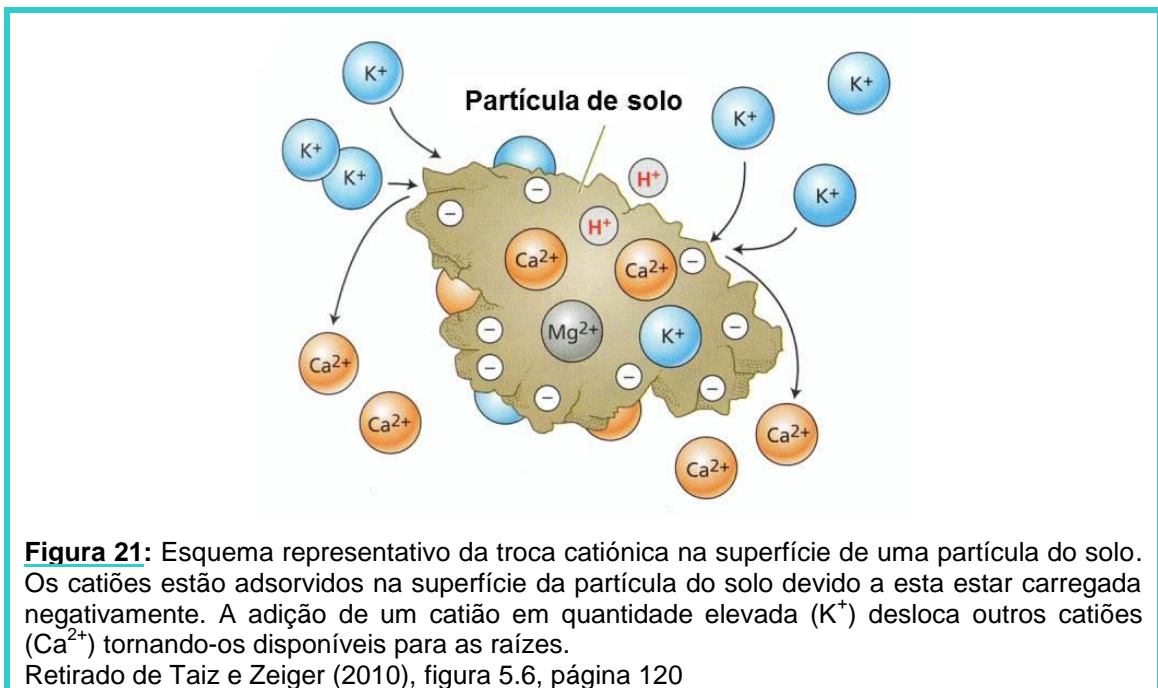
Os iões estão hidratados, isto é, estão envolvidos por uma camada de moléculas de água (concha de hidratação, ver página 57) que vai determinar a interacção entre o colóide e o catião. Assim, um ião com uma dimensão hidratada menor pode aproximar-se mais do colóide e tende a ficar mais fortemente ligado. Por

outro lado, o grau de associação e a concentração iónica diminui com o afastamento à superfície do colóide (Hopkins e Hüner, 2009).

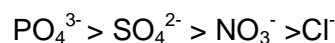
A adsorção dos catiões à superfície dos colóides é *reversível*, pelo que um catião com grande afinidade, como o H^+ pode deslocar um ião com menos afinidade como o Ca^{2+} . No entanto, um catião com menor afinidade se presente em quantidade suficiente pode deslocar, por acção de massas, um catião de maior afinidade (Hopkins e Hüner, 2009). Devido a esta capacidade que os iões têm de “trocar” reversivelmente com catiões idênticos ou diferentes, dissolvidos na solução do solo, falamos em **catiões de troca** (figura 21).

A “troca” com H^+ é particularmente importante. Por um lado as raízes libertam para o solo o H^+ proveniente de ácidos orgânicos, e por outro lado o H_2CO_3 , formado quando o CO_2 da respiração reage com a água, ioniza-se libertando mais protões (ver reacção mais à frente, na página 48). Os protões podem “trocar” com qualquer catião adsorvido nos colóides do solo e torná-lo disponível para as raízes (Salisbury e Ross, 1992).

A capacidade de troca iónica de várias partículas do solo pode ser vista na tabela 6. O grau em que um solo pode adsorver e trocar iões é chamado **capacidade de troca catiónica** (CEC “cation exchange capacity”) desse solo. Um solo com um elevado CEC tem geralmente uma reserva de nutrientes maior (Taiz e Zeiger, 2010).



Entre os aniões, também é possível estabelecer uma série de adsorção, dos mais fortemente ligados aos menos ligados (Larcher, 2001):

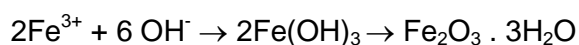


O fosfato (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} ou PO_4^{3-} dependendo do pH do solo) ocorre a baixas concentrações, ainda que a maior parte do fosfato esteja precipitado reversivelmente em sais de alumínio, cálcio ou ferro. O nitrato (NO_3^-), sulfato (SO_4^{2-}) e cloreto (Cl^-) são mais solúveis e são todos repelidos pelos colóides, devido às suas cargas negativas. Devido a esta repulsão estes sais são lixiviados com facilidade. Outra forma de azoto, o NH_4^+ , é adsorvido aos colóides do solo, mas a maioria dos solos contém pouco NH_4^+ porque este é rapidamente oxidado a NO_3^- por bactérias. Devido às necessidades elevadas das plantas em azoto, e às perdas do NO_3^- por lixiviação, a maior parte das culturas (excepto as leguminosas) necessitam de grandes quantidades de fertilizantes azotados. Se o azoto for administrado aos solos na forma orgânica, como por exemplo, em estrume ou plantas mortas, a sua libertação só ocorre por decomposição, e assim, permanece disponível para as plantas durante um período maior. A matéria orgânica também melhora as características físicas do solo, incluindo a capacidade de troca catiónica, além de fornecer outros elementos essenciais.

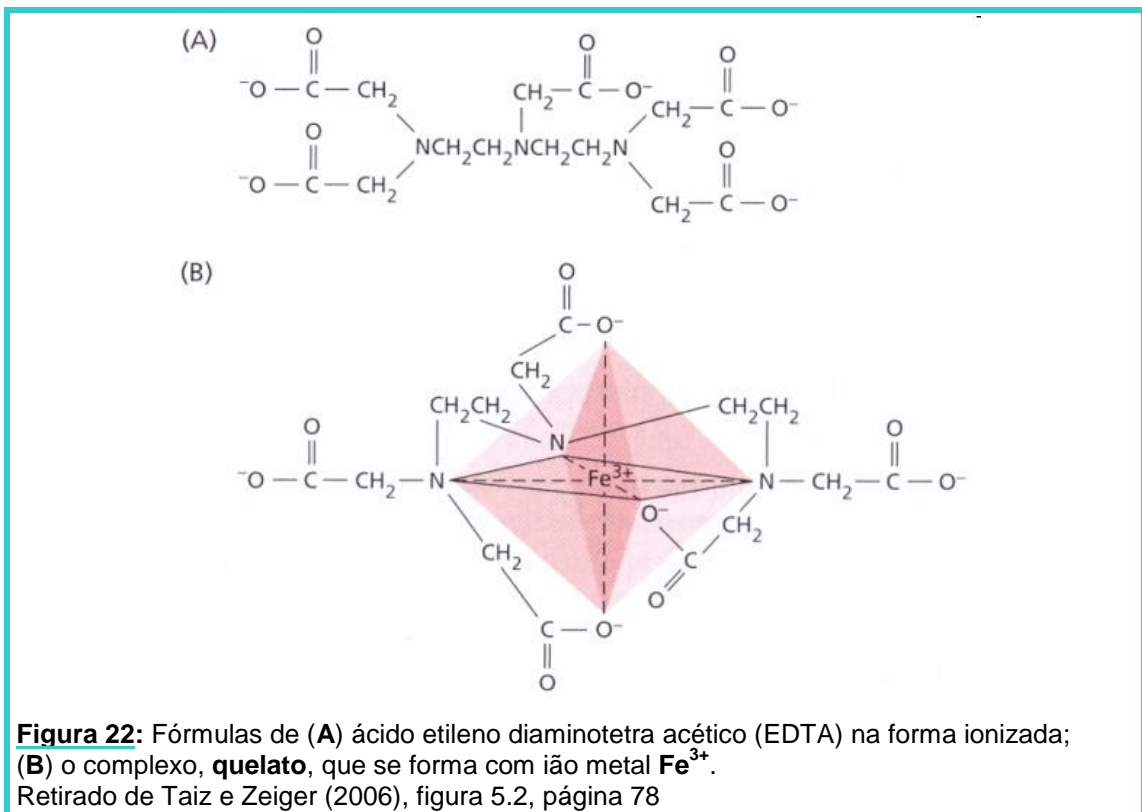
Tabela 6: Propriedades de troca catiónica de várias partículas do solo. CEC = capacidade de troca catiónica ("Cation Exchange Capacity")
Retirado de Larcher (2001), tabela 1.2, página 7

Natureza da partícula	Superfície específica ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	CEC médio (eq kg^{-1})
Óxidos hidratados de Al e Fe	25 – 40	0,03 – 0,05
Caolinita	10 – 20	0,03 – 0,15
Ilita	50 – 300	0,2 – 0,5
Vermiculita	600 – 700	1,5 – 2
Smectita	600 – 800	0,7 – 1,3
Montmorilonita	700 – 1200	0,8 – 1,2
Substâncias húmicas	800	1,3 – 5

Certos micronutrientes catiónicos são relativamente insolúveis em soluções nutritivas, quando são fornecidos como sais inorgânicos, assim como são insolúveis na maior parte das soluções do solo. É o caso do ferro e em menor extensão o zinco, o manganês e o cobre. Esta insolubilidade é particularmente marcante para pH superiores a 5, como é o caso dos solos de regiões de fraca pluviosidade. Nestas condições, os catiões reagem com iões hidróxilo formando-se precipitados insolúveis de óxidos de metal hidratados. O exemplo a seguir mostra a reacção de formação do óxido de ferro:



Devido a esta e outras reacções que contribuem para a sua insolubilização, estes micronutrientes têm de ser mantidos na solução através de outros agentes. É o caso dos **agentes quelatizantes** ou **ligandos** (figura 22). A reacção dum ião metálico di ou trivalente com um ligando forma o chamado **quelato**. Este é o produto solúvel formado quando certos átomos no ligando cedem electrões ao catião. Grupos carboxilo carregados negativamente e átomos de azoto possuem electrões que podem ser compartilhados desta maneira. Nos solos calcários, isto é, os que são ricos em Ca^{2+} e com um pH geralmente igual ou superior a 7, mais de 90 % do cobre e manganês e mais de metade do zinco estão provavelmente ligados a compostos orgânicos produzidos por microorganismos, mas não se conhece bem a natureza destes ligandos (Salisbury e Ross, 1992).



6.4.5. O pH do solo:

A concentração do ião hidrogénio (H^+) no meio envolvente das plantas é um factor de grande influência na sua nutrição e na distribuição das várias espécies (tabela 7). Há que ter em conta que a reacção dos solos depende não só da concentração em H^+ na solução do solo (*acidez real*), mas também da adsorção destes iões a partículas de solo com capacidade de troca (*acidez potencial*). A

maioria dos solos nas regiões húmidas são ligeiramente ácidos – pH 5 a 6,5 – a neutros enquanto os solos de turfa são fortemente ácidos – pH <4 (Larcher, 2001).

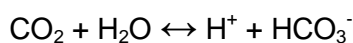
Tabela 7: Exemplos de espécies adaptadas a solos ácidos, neutros ou alcalinos.
Retirado de Mauseth (2009), tabela 13.5, página 301

ÁCIDO (pH 4,5 – 5,5)	BÁSICO (pH 5,5 – 6,5)	ALCALINO (pH 6,5 – 7,5)
Mirtinho (<i>Vaccinium</i> spp.)	Cenoura (<i>Daucus carota</i> L.)	Espargos (<i>Asparagus officinalis</i> L.)
Chá e outras camélias <i>Camelia sinensis</i> (L.) Kuntze	Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	Alface (<i>Lactuca sativa</i> L.)
Erva-doce (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill)	Pea (<i>Pisum sativum</i> L.)	Cebolas (<i>Allium cepa</i> L.)
Batateira (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	Radish (<i>Raphanus sativus</i> L.)	Soja (<i>Glycine max</i> (L.) Merr)
Batata-doce (<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam)	Tomateiro (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	Espinafre (<i>Spinacia oleracea</i> L.)

A acidificação do solo ocorre de várias maneiras:

- 1º- pela remoção de bases por lixiviação;
- 2º- pela remoção dos cátions de troca da solução do solo;
- 3º- pela libertação para o solo de ácidos orgânicos provenientes das raízes e de microorganismos;

4º - e principalmente pela dissociação do ácido carbónico:



O solo está tamponizado, dentro duma certa gama de pH, dependendo da rocha mãe e do grau de saturação dos complexos adsorventes por cátions. Os solos calcários estão tamponizados essencialmente pelo sistema $\text{CaCO}_3/\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$, isto é, um sal duma base forte e dum ácido fraco e são, assim, fracamente alcalinos (Salisbury e Ross, 1992).

O pH do solo tem uma grande influência na sua estrutura, nos processos de humificação e sobretudo na mobilização de nutrientes e na troca de iões. Na figura 23 podemos ver que nos solos mais ácidos há mais iões, Fe^{2+} e Mn^{2+} livres e os iões Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , PO_4^{3-} e MoO_4^{2-} estão esgotados ou ocorrem duma forma difícil de serem absorvidos pelas raízes. Por outro lado, em solos mais alcalinos o Fe^{2+} , o Mn^{2+} e o PO_4^{3-} e certos micronutrientes fixam-se em compostos relativamente insolúveis, de forma que as plantas ficam deficitárias nesses nutrientes (Salisbury e Ross, 1992).

O pH da rizosfera pode diferir do pH do solo em mais de 2 unidades de pH devido:

1. à capacidade de tamponização do solo;
2. à forma em que o azoto é fornecido à planta (NH_4^+ , NO_3^- ou N_2 por fixação simbiótica);

3. às espécies das plantas;
4. ao estado nutricional das plantas.

Na maior parte dos casos estas mudanças no pH são devidas alterações na excreção de H^+ que, por sua vez, são devidas a um desequilíbrio na absorção de cátions e aniões. A forma como o azoto é fornecido é em parte responsável pela diferença entre o PH da rizosfera e o do solo. Assim, o azoto fornecido na forma NH_4^+ causa um decréscimo no pH da rizosfera, mas se for fornecido na forma de NO_3^- causa um aumento do pH da rizosfera. Nos solos neutros ou alcalinos, a acidificação causado pelo fornecimento de NH_4^+ pode melhorar a aquisição de fósforo, potássio, boro, zinco e manganês. Isto pode ser explicado pelo aumento da solubilidade, trocas por adsorção ou a uma combinação de ambas (Marschner, 1991).

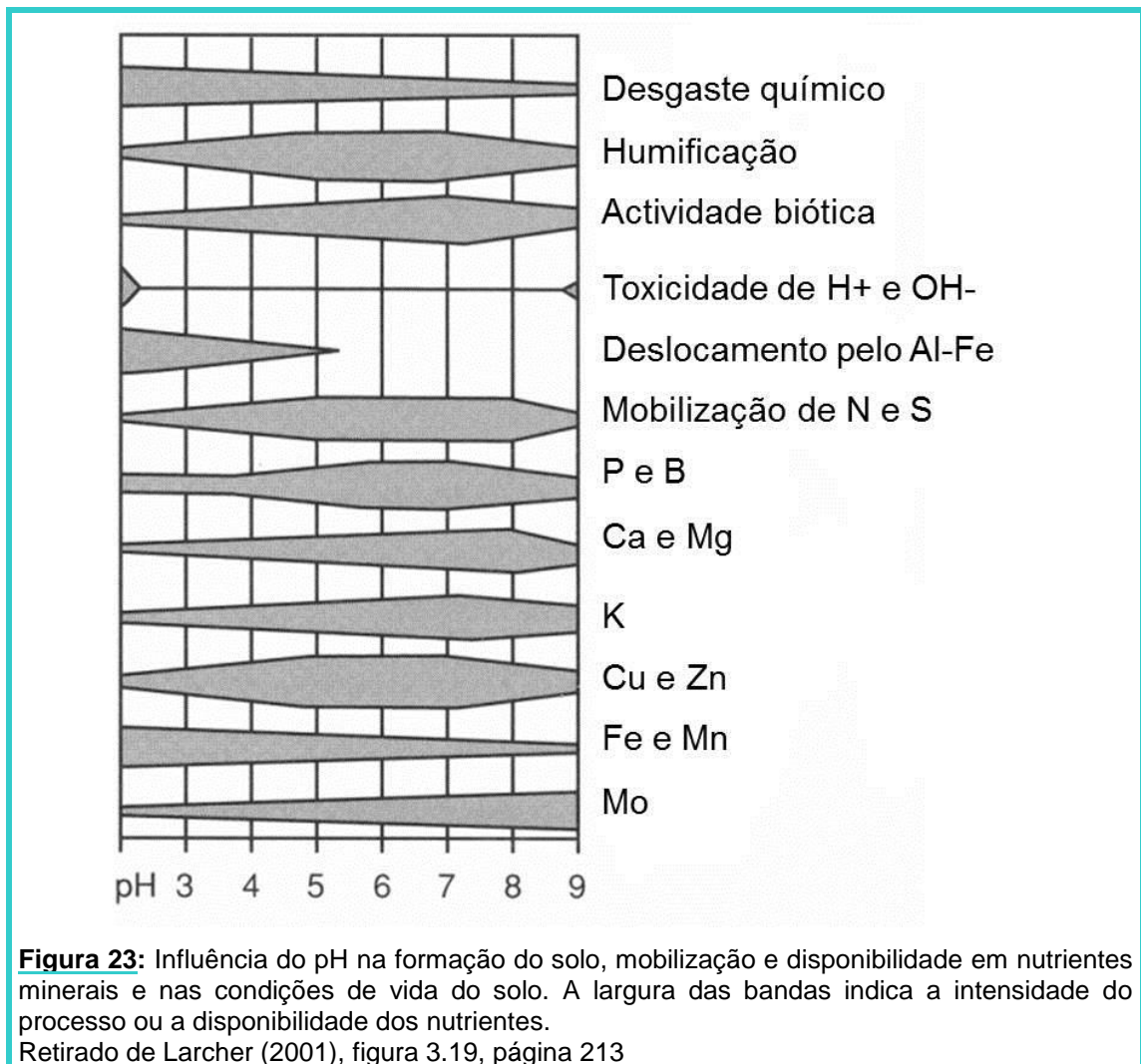


Figura 23: Influência do pH na formação do solo, mobilização e disponibilidade em nutrientes minerais e nas condições de vida do solo. A largura das bandas indica a intensidade do processo ou a disponibilidade dos nutrientes. Retirado de Larcher (2001), figura 3.19, página 213

As leguminosas que fixam o N_2 por simbiose aumentam a absorção cátions em relação a aniões e assim, acidificam a rizosfera de forma semelhante às plantas a que foi fornecido NH_4^+ (Marschner, 1991)

6.4.6. A interferência entre nutrientes:

A absorção de nutrientes depende da interação entre eles: se um ião inibe a absorção de outro falamos em **antagonismo iônico**, se pelo contrário um ião estimula a entrada de outro falamos em **sinergia** (Sebanek, 1992 e Morot-Gaudry, 2009).

Existe *antagonismo* entre iões do mesmo tipo (catiões ou aniões). O efeito antagonista dos catiões é essencialmente dependente das suas propriedades físicas e químicas e das suas concentrações. Assim, uma absorção importante de potássio pode diminuir a absorção de magnésio. Ocorre *sinergia*, por exemplo, entre o nitrato que facilita a absorção de potássio (Morot-Gaudry, 2009)

7. O ARMAZENAMENTO DE NUTRIENTES NA PLANTA

As plantas podem não ter disponível todos os nutrientes minerais que vão necessitar durante todas as fases da sua vida, pelo que precisam de ter mecanismos de armazenamento. Durante a formação dos botões florais e especialmente durante a maturação de frutos e sementes aumenta a necessidade de azoto, fósforo, potássio e outros elementos essenciais (Mauseth, 2009).

Aparentemente, todas as partes das plantas, com exceção das sementes, armazenam minerais na forma solúvel nos vacúolos centrais das células. O azoto pode ser concentrado pela conversão em compostos ricos em grupo amino, como é o caso da asparagina, citrulina e outros compostos que também são utilizados no transporte de azoto. Os fosfatos, os sulfatos e outros nutrientes minerais são sequestrados nos vacúolos centrais nas mesmas formas como são utilizados pelas células. Este método permite apenas armazenar pequenas quantidades de minerais. No entanto, as células vegetais têm o seu volume essencialmente preenchido pelo vacúolo e apenas uma fina camada de citoplasma entre o vacúolo e a parede, pelo que as suas necessidades em nutrientes minerais também é pequena (Mauseth, 2009).

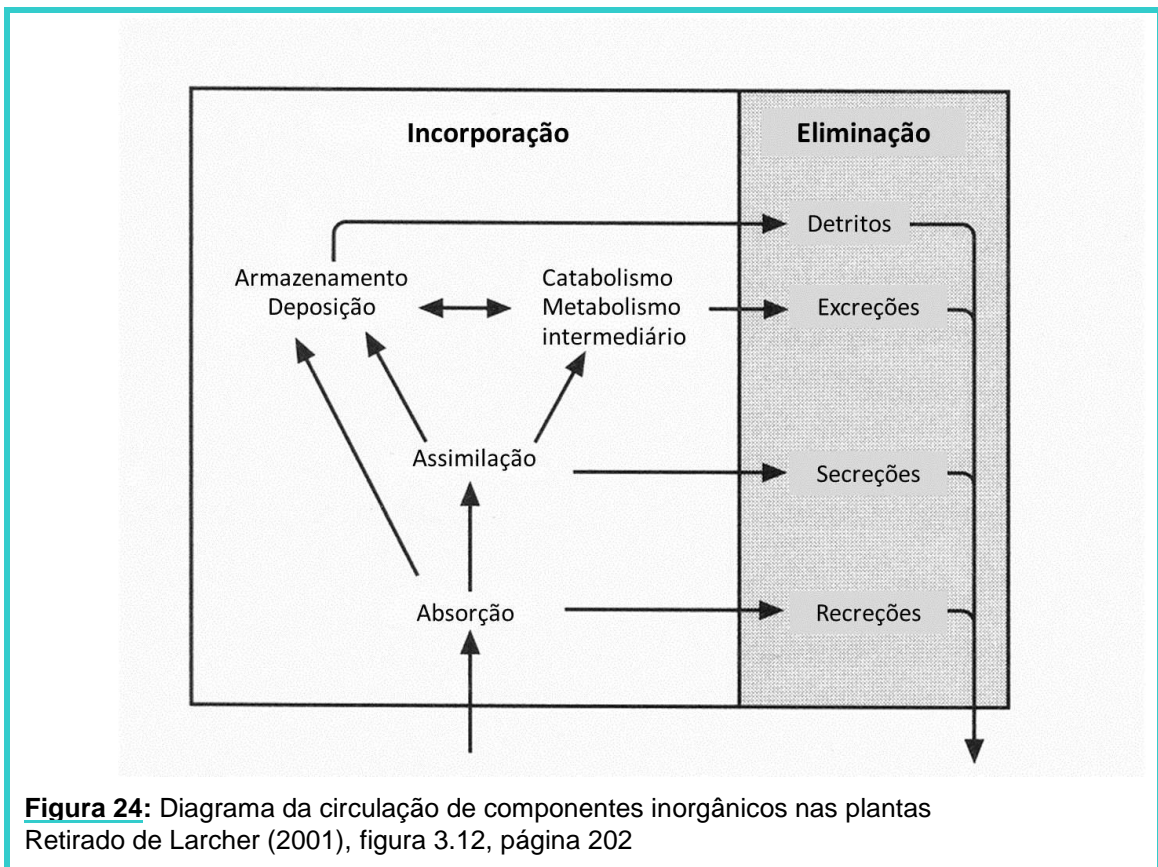
As sementes precisam de ter grandes quantidades de recursos de forma a garantir a sobrevivência da jovem plântula. Assim, têm aminoácidos armazenados como partículas proteicas compactadas tão fortemente que formam uma estrutura cristalina chamada **corpúsculo proteico**. Muitas sementes apresentam dentro destes corpúsculos outra estrutura cristalina duma substância chamada **fitina** (mio-inositol-hexafosfato, IP6) que é um polialcól com seis grupos hidroxilo, cada um com um fosfato ligado. Sendo um ácido, este composto dissocia-se na água libertando os

protões, mas quando a semente em formação concentra a fitina, em vez de protões liga catiões como o magnésio, o cálcio, o zinco, e o potássio. Assim, a fitina permite armazenar não apenas aminoácidos e fosfato, mas também nutrientes minerais (Mauseth, 2009).

8. A ELIMINAÇÃO DOS MINERAIS

Os minerais estão continuamente a ser transportados para todos os órgãos das plantas onde gradualmente se acumulam nos tecidos. A maior parte dos compostos contendo os minerais são eliminados quando ocorre a queda dos vários órgãos da planta, especialmente de folhas, restos de flores e frutos maduros. A perda regular e substituição de folhas e do ritidoma constituem processos de eliminação em plantas perenes (Mauseth, 2009).

Os minerais podem também ser eliminados de forma directa por três processos distintos (figura 24):



1. **Recreção** é a eliminação dos minerais na mesma forma em que foram absorvidos. Quantidades consideráveis de elementos minerais saem da planta por toda a sua superfície. Iões como o K^+ , Na^+ , Mg^{2+} e Mn^{2+} são lixiviados pelas águas das chuvas. Muitas espécies que crescem em habitats salinos têm glândulas

especiais para eliminação dos sais, outras eliminam os minerais pelos *hidátodos* localizados nas margens e no ápice das folhas.

2. **Secreção** é a saída de compostos orgânicos que são produtos de assimilação, como os aminoácidos nos exsudados radiculares e que têm uma função fisiológica.

3. **Excreção** é a eliminação de compostos orgânicos resultantes do metabolismo secundário, ou de processos catabólicos (Larcher, 2001).

9. A INTERDEPENDÊNCIA ENTRE A RAIZ E A PARTE AÉREA

A maioria das espécies, com excepção de algumas existentes em ambientes mais secos, investe a maior parte da sua biomassa na parte aérea. Assim, é lógico pensar-se que a absorção de sais minerais deva, até certo ponto, ser controlada por actividades da parte aérea. Este controle ocorre de duas formas. Por um lado, a parte aérea pode aumentar a absorção de sais minerais utilizando-os em produtos do crescimento, como por exemplo, proteínas e clorofila. Por outro lado, a parte aérea fornece, através do floema, carboidratos que a raiz tem de respirar para produzir o ATP necessário para a absorção de sais minerais (figura 25).

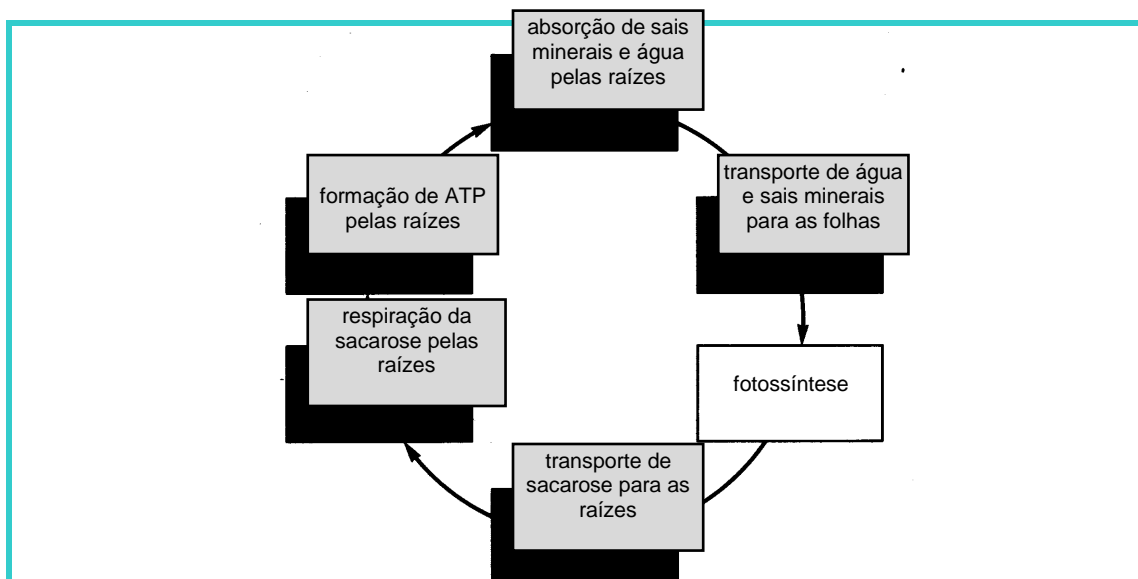


Figura 25: Interações entre alguns processos fisiológicos nas raízes e na parte aérea que afectam a absorção de sais minerais do solo.
Retirado de Salisbury e Ross (1991), figura 7.20, página 160

A parte aérea, possivelmente, também fornece reguladores de crescimento que afectam a absorção pelas raízes. De facto, existem muitos dados que apontam para a existência duma interdependência entre as actividades das raízes e da parte

aérea. Por exemplo, existem excelentes correlações entre a taxa de crescimento da parte aérea e a taxa de absorção de azoto, fósforo e potássio. As taxas de respiração das raízes ao longo do dia estão, por vezes, fortemente correlacionadas com a fotossíntese. Existem, também, dados que apontam para que o máximo de absorção do nitrato está correlacionado com o máximo de fotossíntese. No entanto, a absorção está retardada em cerca de 5 horas, o que permite sugerir a necessidade da translocação de carboidratos e respiração na raiz no intervalo entre os dois máximos.

2ª PARTE: ABSORÇÃO E TRANSPORTE DE SOLUTOS

1. INTRODUÇÃO

A membrana plasmática separa o interior da célula, que é um ambiente essencialmente constante, do exterior extremamente variável. Por ser fundamentalmente formada por uma dupla camada lipídica, constitui uma barreira hidrofóbica à difusão. É função da membrana regular constantemente o movimento, para dentro e para fora da célula, de moléculas e iões na nutrição, na exportação de solutos e na regulação da turgidez. O mesmo acontece com as membranas que rodeiam os vários organelos celulares (Taiz e Zeiger, 2010).

A membrana plasmática desempenha ainda uma função muito importante na percepção do ambiente físico que a rodeia, na recepção de sinais provenientes de outras células ou na detecção de agentes patogénicos (Taiz e Zeiger, 2010).

Muito antes dos microscópios electrónicos terem sido desenvolvidos ou de se saber isolar membranas para análises químicas já se estudavam as propriedades de absorção das membranas. Isto levou ao estabelecer de quatro propriedades essenciais das membranas:

1ª - Se as células não estiverem vivas e a metabolizar, as suas membranas tornam-se muito mais permeáveis aos solutos.

Se a célula for morta por temperaturas elevadas ou venenos, ou se o seu metabolismo for inibido por baixas temperaturas, temperaturas elevadas mas não letais, ou ainda inibidores específicos, muitos dos solutos contidos numa célula saem, e muitos dos que estão no exterior entram para o seu interior. Este movimento representa, apenas, um transporte passivo por difusão livre ao longo dum gradiente decrescente de energia livre, para todos os solutos envolvidos (Salisbury e Ross, 1992).

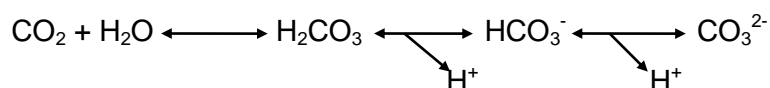
2ª - As moléculas de água e de gases dissolvidas, como o N₂, o O₂ e o CO₂, difundem-se passiva e rapidamente através de todas as membranas. A água atravessa rapidamente a membrana, por fluxo em massa, através de canais específicos que são as aquaporinas. Para a maioria das células a difusão rápida do N₂ parece não ter quaisquer consequências. O azoto do ar move-se simplesmente

para dentro e para fora das células e dos seus organitos a taxas iguais e sem qualquer efeito apreciável. O movimento rápido do oxigénio para o interior das células permite que ocorra a respiração e é importante para todas as células aeróbicas, quer de dia quer de noite. Para as células fotossintéticas, o movimento de O_2 para o exterior é um processo normal durante o dia, quando a fotossíntese excede a respiração. O movimento rápido do CO_2 é crucial para as células fotossintéticas durante o dia. No entanto, à noite o CO_2 move-se para fora das células quer estas sejam fotossintéticas ou não. Para todos estes gases a difusão através de uma membrana é um movimento passivo ao longo dum gradiente decrescente de energia livre (Salisbury e Ross, 1992).

3ª - Os solutos hidrofóbicos atravessam as membranas a taxas que estão directamente relacionadas com a sua solubilidade nos lípidos.

Solutos mais hidrofóbicos (menos hidrofílicos) movem-se através das membranas mais rapidamente que os de propriedades opostas. Por exemplo, a molécula de álcool metílico (CH_3OH) não é muito mais pequena que a da ureia ($H_2N—CO—NH_2$), mas é cerca de 30 vezes mais solúvel em lípidos, e assim, move-se cerca de 300 vezes mais depressa que a ureia para o interior da célula gigante da alga *Chara ceratophylla* Wallroth. Pensa-se que tanto a ureia como o álcool metílico se movem através da membrana plasmática para o interior das células apenas por difusão passiva, através da bicamada lipídica, em direcção a uma zona de menor concentração. Foram observações deste género que permitiram, inicialmente, considerar-se que as membranas eram ricas em lípidos, muito antes de se saber da existência da bicamada (Salisbury e Ross, 1992).

Saber se um soluto se ioniza quando dissolvido em água, é um problema prático, porque qualquer carga, independentemente de ser positiva ou negativa diminuiria muito a solubilidade nos lípidos, aumentaria a solubilidade na água e diminuiria a permeabilidade das células a esse soluto. Um exemplo importante diz respeito ao CO_2 dissolvido, à sua forma hidratada H_2CO_3 , à forma iónica principal HCO_3^- , e à forma ainda mais ionizada CO_3^{2-} obtida reversivelmente a pH superior a 8:



Uma maior porção de carbono é absorvido na forma de CO_2 dissolvido, para valores de pH baixos que para valores de pH mais elevados, onde predominam as formas HCO_3^- e CO_3^{2-} carregadas negativamente e insolúveis nos lípidos.

Ao contrário dos compostos ácidos como o H_2CO_3 , as bases azotadas são geralmente absorvidas mais rapidamente em soluções neutras ou ligeiramente básicas, porque o azoto atrai um H^+ tornando-se carregado positivamente. De novo,

a razão para este comportamento é a da maior solubilidade destas bases quando não ionizadas.

Outra explicação para a absorção lenta de aniões é o facto do citosol ser negativamente carregado, em relação às paredes celulares e à solução externa, o que repele os aniões (Salisbury e Ross, 1992).

4ª - As moléculas hidrofílicas e os iões de solubilidade semelhante nos lípidos, penetram nas células a taxas inversamente proporcionais às suas dimensões.

Para os iões, a dimensão relevante, em termos de taxa de penetração, é a obtida após a fixação da água de hidratação (conchas de hidratação). Dependendo da densidade de carga, cada ião atrai a si um número médio de moléculas de água que ficam fortemente ligadas. Por exemplo o lítio (Li^+ , massa atómica 6.9) tem apenas uma camada completa de electrões à volta do seu núcleo, tem 0.12 nm de diâmetro quando não está hidratado, e liga cerca de cinco moléculas de água. O potássio (K^+ , massa atómica 39.1) tem várias camadas de electrões e um diâmetro de 0.27 nm quando não está hidratado, mas liga-se a apenas quatro moléculas de água. Assim, o Li^+ hidratado é ligeiramente mais largo que o K^+ hidratado e difunde-se através das membranas mais devagar. Os catiões divalentes, como o Mg^{2+} e o Ca^{2+} , têm densidades de carga maiores que o Li^+ ou o K^+ , ligam-se a cerca de uma dúzia de moléculas de água e são absorvidos muito mais devagar que os catiões monovalentes. Por outro lado, os catiões divalentes como o Fe^{2+} , são absorvidos mais rapidamente que os trivalentes, como o Fe^{3+} . O mesmo princípio é aplicável aos aniões. Assim, os aniões monovalentes Cl^- e NO_3^- são absorvidos mais depressa que os divalentes, como o SO_4^{2-} . O anião H_2PO_4^- , monovalente, é absorvido mais depressa que o divalente HPO_4^{2-} , e este é absorvido mais depressa que o trivalente PO_4^{3-} . A pH 7, que é aproximadamente o pH do citosol, a ionização do H_2PO_4^- a HPO_4^{2-} está sensivelmente a meio, de modo que existem quantidades sensivelmente iguais de fosfato mono e divalente, não existindo praticamente a forma PO_4^{3-} . Para pH inferior a 6, como acontece nas paredes das células, vacúolos e solos ácidos, a forma monovalente é dominante. O transporte do fosfato através da membrana plasmática faz-se geralmente na forma H_2PO_4^- (Salisbury e Ross, 1992).

2. CARACTERÍSTICAS DA ABSORÇÃO DE SOLUTOS

Uma vez absorvidos para o citoplasma ou vacúolo das células, os iões ou moléculas orgânicas não saem facilmente, isto é, o **efluxo**, ou movimento para fora é frequentemente muito lento. O efluxo rápido pode ser induzido por danos nas membranas como venenos, excesso de temperatura, falta de O_2 e até certo ponto

pela remoção de cálcio. No entanto, estas situações anormais causam a morte da célula. O efluxo lento mostra que a absorção é essencialmente um movimento unidireccional para dentro – **influxo** (Salisbury e Ross, 1992).

2.1. A ESPECIFICIDADE E A SELECTIVIDADE NA ABSORÇÃO DE SOLUTOS:

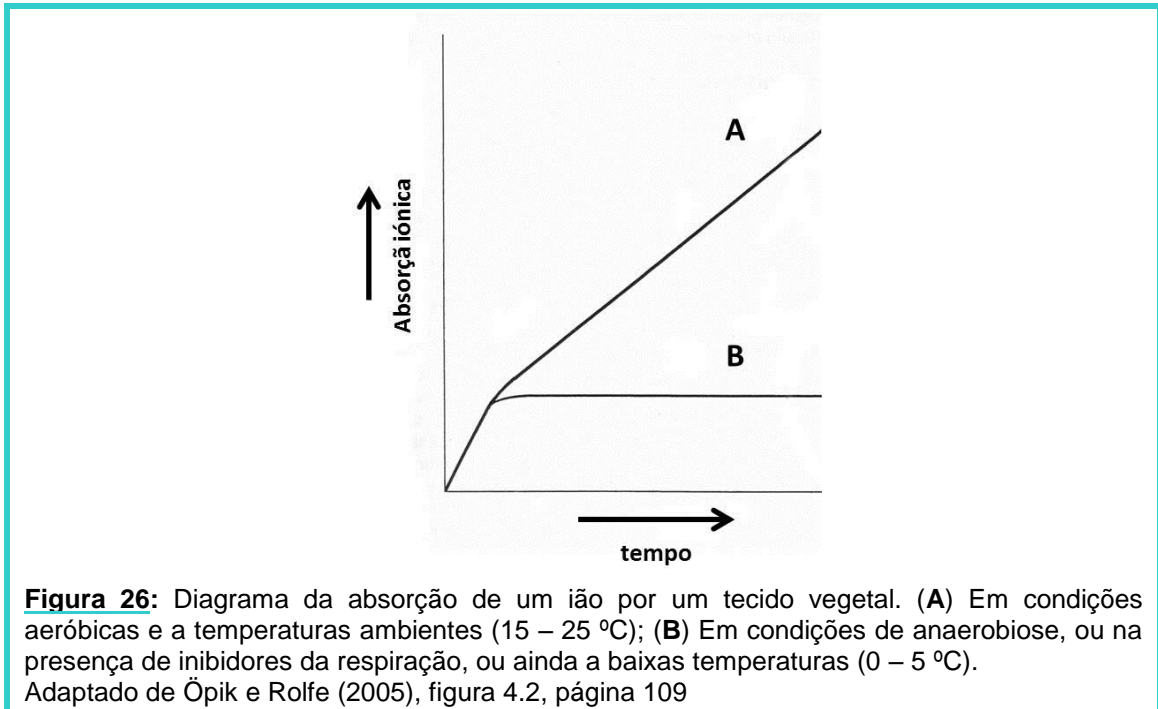
Vários estudos realizados principalmente nas décadas de 50 e 60, utilizando raízes destacadas de plântulas e incubadas em soluções arejadas, mostraram que os solutos são absorvidos e acumulados por processos selectivos. Assim, raízes incubadas em soluções diluídas de KCl (cerca de 0.2 mM), com 0.2 mM de Ca^{2+} para manter as funções normais das membranas, absorvem o K^+ a taxas que não são alteradas por concentrações semelhantes de sais de Na^+ . Isto acontece apesar do Na^{2+} ser quimicamente semelhante ao K^+ , o que mostra que o processo de acumulação de K^+ é selectivo e não é influenciado, nestas condições, por um ião semelhante. Muitos outros iões mono e divalentes também não influenciam a absorção de K^+ . Em estudos semelhantes realizados com Cl^- , verificou-se que a absorção deste ião também não é influenciada por iões quimicamente semelhantes, como o fluoreto ou o iodeto, assim como não é influenciada por NO_3^- , SO_4^{2-} , ou H_2PO_4^- . Os iões cálcio são essenciais para esta selectividade porque sem eles a absorção de K^+ , por exemplo, é inibida por baixas concentrações de Na^+ (Salisbury e Ross, 1992).

Apesar desta aparente grande selectividade, os mecanismos de absorção às vezes são “enganados”. A absorção de K^+ é inibida competitivamente pelo rubídio (Rb^+), e a penetração das membranas por estes dois iões é aparentemente regulada pelos mesmos mecanismos. Resultados competitivos semelhantes são frequentemente obtidos para os iões monovalentes Cl^- e Br^- (brometo); para os iões divalentes Ca^{2+} e Sr^{2+} (estrôncio) e por vezes Mg^{2+} ; e ainda para aniões divalentes SO_4^{2-} e selenato (SeO_4^{2-}). Esta selectividade ao transporte iónico, apresentada pelas raízes, aplica-se também a compostos orgânicos como os amino ácidos e açúcares, e ocorre em todas as partes da planta (Salisbury e Ross, 1992).

Os mecanismos moleculares responsáveis pela selectividade implicam uma discriminação dos iões em função da sua dimensão e da energia de desidratação necessária para “arrancar” as moléculas de água que formam a “concha” de hidratação do ião. De facto, o ião deve perder a sua “concha” de desidratação para passar pela zona mais estreita do poro (Morot-Gaudry, 2009).

2.2. O CONCEITO DE ESPAÇO LIVRE

O movimento de iões para um tecido vegetal que tenha sido perfeitamente lavado e depois imerso numa solução de iónica, tem duas fases. A primeira, mais rápida, é seguida de outra muito mais lenta (figura 26).



Em situações que limitem a produção de energia metabólica, como sejam temperaturas baixas ou situações de anaerobiose, apenas a primeira fase ocorre (figura 26-B). Isto sugere que a tomada inicial de iões é um processo meramente biofísico que não requer energia metabólica. Em contrapartida, a absorção lenta necessita de energia para a passagem dos iões para o interior do citoplasma (Öpik e Rolfe, 2005).

Na figura 27 apresenta-se o diagrama da absorção de cálcio (Ca^{2+}) por raízes de cevada. Podemos ver que nos minutos iniciais se observa uma absorção rápida, seguida de uma mais lenta e constante, correspondente à entrada dos iões para o interior das células onde acumulam, semelhantes ao que observámos na figura 26 – A. Se passadas cerca de 3 horas o tecido for colocado num volume muito largo de água destilada, saem iões Ca^{2+} do tecido em quantidades ligeiramente inferiores às que foram absorvidas durante a absorção rápida (figura 27-A). Isto deve-se à saída dos iões do chamado **espaço livre aparente** (“Apparent free space”) constituído pelas paredes e espaços intercelulares, onde a água e os solutos se podem movimentar livremente até se estabelecer um equilíbrio entre a solução externa e o espaço livre (Hopkins e Hüner, 2009).

Se em seguida colocarmos o tecido numa solução contendo outro catião, como o magnésio (Mg^{2+}), verifica-se que há uma saída adicional de iões Ca^{2+} (figura 27-B).

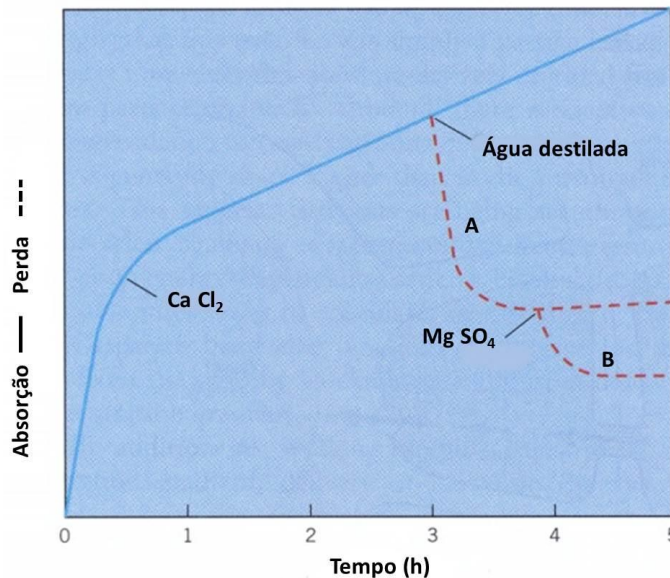


Figura 27: Diagrama da absorção do Ca^{2+} por raízes de cevada (*Hordeum vulgare* L.). Pode observar-se uma absorção rápida seguida de uma absorção lenta mas constante. Quando as raízes foram colocadas num grande volume de água destilada (A) alguns dos iões difundem-se para fora das raízes. Quando as raízes foram colocadas num grande volume de uma solução contendo Mg^{2+} (B) libertaram-se para o meio mais alguns iões de Ca^{2+} . O total de iões Ca^{2+} libertados é equivalente ao que foi absorvido por difusão livre na fase rápida da absorção.

Retirado de Hopkins e Hüner (2009), figura 3.11, página 53

Se os volumes de água destilada e da solução contendo Mg^{2+} forem suficiente grandes, o Ca^{2+} total perdido é aproximadamente igual ao que foi absorvido na fase rápida. A saída de mais Ca^{2+} na solução contendo Mg^{2+} mostra que as paredes das células funcionam como material de troca catiónica, como acontece no solo. Isto deve-se a terem cargas negativas que prendem os catiões por atracção electrostática. Estes catiões não se podem difundir livremente para fora do tecido, mas podem ser deslocados por outros catiões (Hopkins e Hüner, 2009). Considera-se que estes catiões estão no chamado **espaço livre de Donnan** ("Donnan free space") (Öpik e Rolfe, 2005).

2.3. A ACUMULAÇÃO DE SOLUTOS NO INTERIOR DAS CÉLULAS:

Uma característica notável de todas as células é a capacidade de absorverem certos solutos essenciais tão depressa e durante períodos de tempo tão longos que, a concentração desses solutos no seu interior se torna muito mais elevada que no

exterior. A esta absorção dá-se o nome de **acumulação**. À razão entre a concentração interna (C_i) e externa (C_o) dá-se o nome de **razão de acumulação** (C_i/C_o) (tabela 8).

Tabela 8: Plantas de milho (*Zea mays* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) foram colocadas em meios de cultura de composição inicial idêntica (C_o) durante 4 dias, ao fim dos quais mediu-se o conteúdo em iões presentes na solução obtida por pressão radicular. É de notar: 1. Os iões acumularam-se no interior das raízes em concentrações (C_i) superiores ao da solução exterior; 2. Os iões acumularam-se em proporções que são diferentes das que existiam entre eles na solução exterior; 3. As duas espécies têm conteúdos em iões diferentes.

Adaptado de Öpik e Rolfe (2005), tabela 4.3, figura 119

Ião	Concentração inicial (mM) C_o	Concentração na raiz (mM) C_i		Razão de acumulação C_i/C_o	
		Milho	Feijão	Milho	Feijão
K^+	2,00	160	84	80,00	42,00
Ca^{2+}	1,00	3	10	3,00	10,00
Na^+	0,32	0,6	6	1,88	18,75
Pi^*	0,25	6	12	24,00	48,00
NO_3^-	2,00	38	35	19,00	17,50
SO_4^{2-}	0,67	14	6	20,89	8,96

* Pi = Fosfato inorgânico que pode ter várias formas iónicas

Por exemplo, pedaços de tecidos de armazenamento, como tubérculos de batata, colocados em soluções nutritivas esgotam frequentemente, as soluções externas em iões após um dia ou dois. Durante este tempo, alguns iões (especialmente K^+) atingem concentrações internas cerca de 1000 vezes superiores às da solução externa final (Salisbury e Ross, 1992).

Poder-se-ia pensar que uma razão de acumulação superior a um é uma prova de transporte activo porque há um movimento contra um gradiente de concentração. Pelo contrário, uma razão de acumulação inferior a um implicaria que o soluto teria sido activamente excluído ou expelido. Como veremos mais adiante, nem sempre é assim, sobretudo com partículas carregadas, pelo que quando se estuda a absorção de solutos por uma célula há que ter em conta se são solutos carregados ou não (Hopkins e Hüner, 2009).

Destes e doutros estudos semelhantes pode-se concluir que um soluto é acumulado dependendo do próprio soluto e da espécie. É importante realçar que a restrição de sódio é comum à maioria das angiospérmicas e gimnospérmicas (Salisbury e Ross, 1992).

O conhecimento da acumulação dos diferentes minerais, obtida através do estudo das cinzas permite utilizar certas plantas selvagens como indicadoras de depósitos de minérios (Larcher 2001).

2.4. A CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE SOLUTOS:

Nos anos 50 Epstein e colegas (citados por Morot-Gaudry, 2009) verificaram que a taxa de absorção⁷ do ião potássio (K⁺) pela raiz de cevada (*Hordeum vulgare* L.) aumentava, de início, muito rapidamente quando se aumentava a concentração do ião no meio, mas depois diminuía até se atingir uma saturação (curva a vermelho na figura 28). Isto levou Epstein a considerar que o sistema de transporte do ião seguia a cinética de **Michaelis-Menten** para os sistemas enzimáticos:



sendo que S = é a concentração do substrato no exterior; P = é a concentração do substrato no interior e E = sistema de transporte na membrana responsável pelo transferência do substrato.

Segundo a cinética de Michaelis-Menten , o fluxo **J** do ião (número de moles por unidade de tempo) é descrito pela equação:

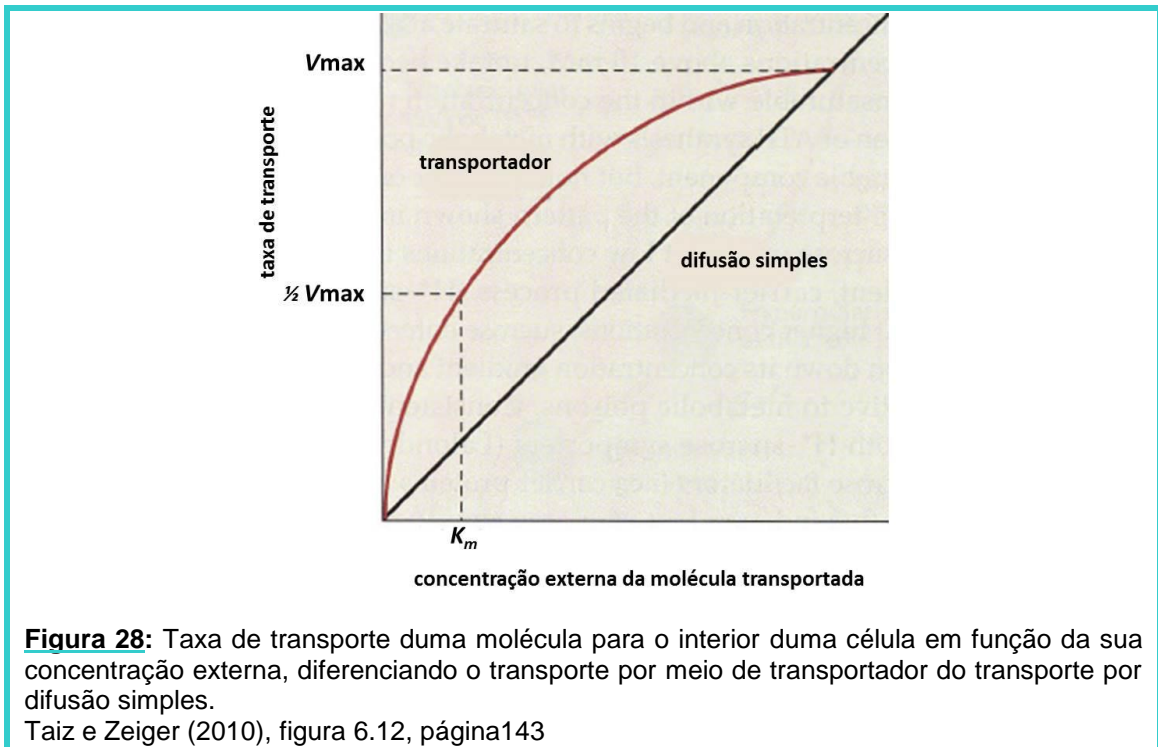
$$J = [J_{\max} \cdot (S)] / [K_M + (S)]$$

em que **J_{max}** é fluxo máximo da reacção quando se atinge a saturação e **K_M** é a constante de Michaelis-Menten e tem a dimensão duma concentração. Pela equação podemos ver que quando a concentração (**S**) do substrato no meio é igual a **K_M** o fluxo **J** é igual a metade do fluxo máximo **J_{max}**. A constante **K_M** quantifica a **afinidade** do transportador pelo seu substrato. Um valor baixo de **K_M** significa que a reacção atingiu a metade da sua velocidade máxima para uma baixa concentração de substrato (**S**), logo o transportador tem uma **elevada afinidade** pelo seu substrato. Pelo contrário, um valor de **K_M** elevado significa que o transportador tem **pequena afinidade** para o substrato (Morot-Gaudry, 2009).

Em termos reais, a adopção da cinética de Michaelis-Menten para o transporte iónico não é muito correcta porque utiliza a lei de acção de massas para descrever uma reacção que ocorre em solução aquosa homogénea. No entanto, o transporte iónico corresponde a um processo orientado, vectorial, num espaço não homogéneo e é por isso mais complexo de descrever que uma reacção enzimática. Apesar destas limitações a cinética de Michaelis-Menten fornece um quadro

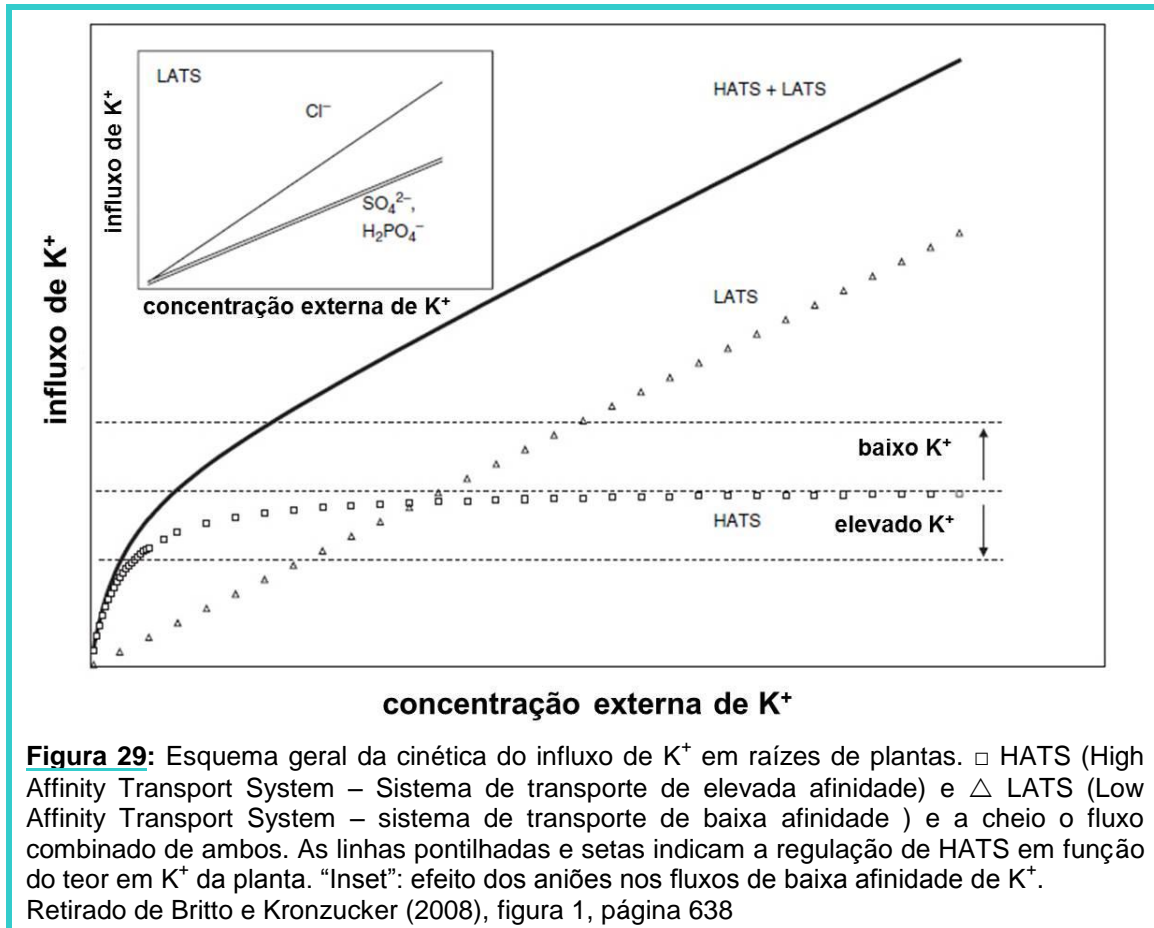
⁷ Entende-se por “taxa de absorção” o número de moles do ião por unidade de tempo e por unidade de massa radicular que é absorvido a partir do meio exterior

conceptual às análises de transporte de solutos e permite uma representação e uma interpretação fisiológica (Morot-Gaudry, 2009).



Pensa-se que para cada íon mineral as células vegetais, e em particular as células das raízes, possuem pelo menos um sistema de transporte de forte afinidade, com um K_M entre 1 e 10 μM , a que Epstein inicialmente chamou “Mecanismo 1” e mais tarde adquiriu o nome de **High Affinity Transport System (HATS)**. Têm também um sistema de fraca afinidade, o “Mecanismo 2” ou **Low Affinity Transport System (LATS)** que funciona para concentrações externas milhares de vezes superiores e que mostra pouca ou nenhuma saturação (Britto e Kronzucker, 2008 e Morot-Gaudry, 2009).

A figura 29 mostra um gráfico para ambos os sistemas para o caso do íon K^+ . Para além das concentrações externas a que operam e das diferenças na forma das curvas que traduzem a absorção pelos dois sistemas, estes têm características únicas que os distinguem e de que falaremos mais à frente.



Para além da dependência da sua concentração no exterior, a taxa a que um ião é absorvido depende da necessidade fisiológica da planta. Há dados que mostram uma taxa de absorção do nitrato (NO_3^-) constante para uma gama larga de concentrações externas, assim como dados que mostram a manutenção de concentrações internas mantidas constantes para vários iões como o K^+ , o Cl^- o P_i e o NO_3^- ao longo duma grande gama de concentrações externas. Aparentemente existe um “feedback” negativo entre o conteúdo do tecido num dado ião e a taxa a que é absorvido por esse tecido (Öpik e Rolfe, 2005). A tabela 9 mostra que, em condições idênticas, plantas com maior teor em potássio nos seus tecidos absorvem potássio a taxas inferiores às plantas com menor teor nesse ião.

Tabela 9: O efeito da concentração interna em potássio (K^+) na taxa de absorção deste ião por raízes de cevada (*Hordeum vulgare* L.). As raízes acumularam K^+ até aos níveis indicados, foram então destacadas e colocadas num meio contendo K^+ marcado com ^{86}Rb para serem determinadas as taxas de absorção.

Retirado de Ôpik e Rolfe (2005), tabela 4.4, página 120

Concentração radicular em K^+ [$\mu\text{mol g}^{-1}$ (peso fresco)]	Taxa de absorção de K^+ [$\mu\text{mol g}^{-1}$ (peso fresco) h^{-1}]
20,9	3,05
32,1	2,72
47,9	2,16
57,8	1,61

3. A ENERGIA NOS PROCESSOS DE TRANSPORTE

3.1. O CONCEITO DE POTENCIAL QUÍMICO (μ_s)

A força motriz para o movimento de uma molécula numa solução ou numa fase gasosa é um **gradiente** da sua **energia potencial**. Exceptuando quando estão a zero absoluto, as moléculas estão em permanente movimento que as leva a distribuírem-se uniformemente no espaço disponível, como se pode ver na figura 30.

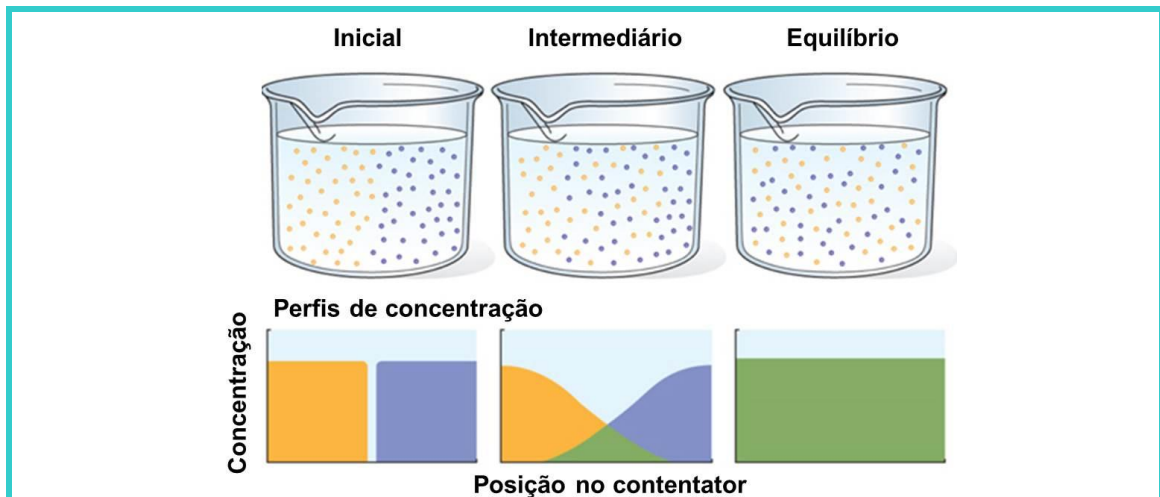


Figura 30: O movimento térmico ao acaso dissipa os gradientes de concentração, levando no fim à mixagem completa. Inicialmente as moléculas azuis e amarelas estão completamente separadas, mas em equilíbrio estão distribuídas ao acaso e uniformemente. A difusão das moléculas de cada espécie é conduzida pelo gradiente da sua própria concentração. A difusão é mais rápida na fase gasosa, mais lenta na fase líquida e ainda mais lenta na fase sólida.

Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 5.3, página 151

A difusão ocorre espontaneamente, isto é, não é necessário fornecer energia. A taxa a que ocorre a difusão de uma molécula vai depender da sua dimensão, da grandeza do seu gradiente, da viscosidade do meio e da temperatura, e pode ser expressa pela **1ª Lei de Fick**:

$$J_s = - D_s(\Delta C_s/\Delta x) \quad (\text{equação 1})$$

Em que J_s é a taxa de difusão ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); D_s é o coeficiente de difusão; $(\Delta C_s / \Delta x)$ é o gradiente, ou seja, a diferença de concentrações (ΔC_s) entre dois pontos (Δx); por fim, o sinal negativo representa o sentido do gradiente, do mais concentrado para menos concentrado (Jones *et al.*, 2013).

A lei de Fick descreve o fluxo dum soluto sem carga, e por isso apenas considera a concentração. No entanto, quando se estuda o transporte de solutos num sistema biológico, deve considerar-se a soma de todas as forças físicas que actuam sobre os solutos. O **potencial químico** (μ_s) dum soluto é a sua energia livre por mole e é afectado por: 1. concentração do soluto; 2. a sua carga eléctrica e 3. A pressão hidrostática:

$$\mu_s = \mu_s^* + RT \ln C_s + z_s F E + \bar{V}_s P \quad (\text{equação 2})$$

em que μ_s^* é o potencial químico de s em condições normais⁸ de pressão e temperatura, ou seja, o ponto de referência para medirmos o potencial químico de (s) no sistema em estudo. O termo $RT \ln C_s$ é o componente referente à **concentração** que inclui a concentração C de s em moles por litro à pressão normal; R (é a constante dos gases, $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), e T é a temperatura absoluta em graus Kelvin. O termo $z_s F E$ representa o componente eléctrico em que z é a carga de s (zero para uma molécula sem carga e +1, +2 ou -1, -2, etc. dependendo da valência do catão ou anião). F é a constante de Faraday ($96,49 \times 10^3 \text{ C mol}^{-1}$, ou $96,49 \times 10^3 \text{ J V}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e E é o potencial eléctrico da solução. O termo $\bar{V}_s P$ inclui o volume parcial molal, \bar{V} , de s e a pressão, P (Jones *et al.* 2013).

Quando se considera o potencial químico de moléculas biológicas ao nível celular, as contribuições de \bar{V} e de P são geralmente muito pequenas quando comparadas com as contribuições da concentração química e das propriedades eléctricas de s . Assim, para um ião ou molécula carregada a equação anterior pode ser simplificada para:

$$\mu_s = \mu_s^* + RT \ln C_s + z_s F E \quad (\text{equação 3})$$

⁸ Em química, o termo **condições normais de pressão e temperatura** refere-se a condições de 273,15 K (ou 0 °C) e 100 kPa (1 bar) de pressão. Em certos trabalhos encontramos, por vezes, o termo **condições ambientais de pressão e temperatura** que correspondem a 20 °C e 1 bar.

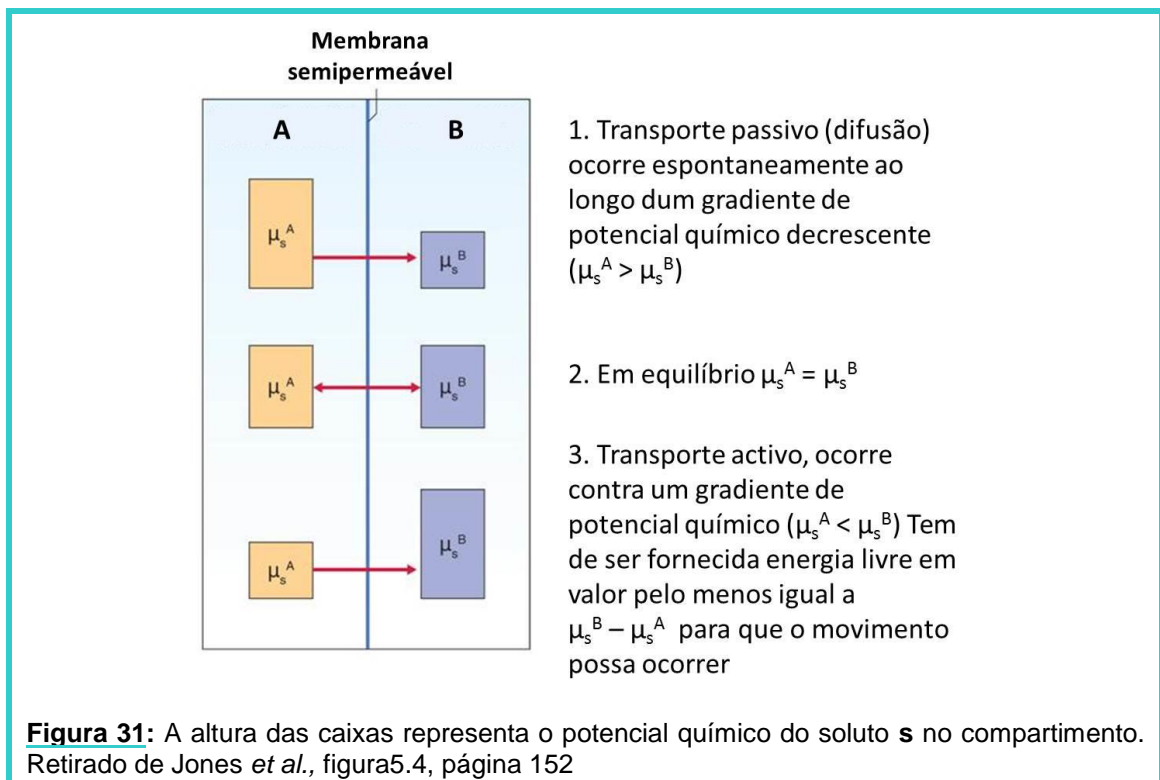
O potencial químico das espécies com carga é frequentemente chamado de **potencial electroquímico**. Para solutos sem carga, o componente eléctrico é igual a zero e a equação para o potencial químico fica:

$$\mu_s = \mu_s^* + RT \ln C_s \quad (\text{equação 4})$$

Há que notar que a componente hidrostática dos solutos nas células é muito pequena, mas a pressão é um factor muito importante quando consideramos o potencial hídrico das células (Jones *et al.*, 2013).

3.2. GRADIENTES DE POTENCIAL QUÍMICO ($\Delta\mu_s$)

Do que vimos anteriormente resulta que a força motriz para a difusão de um para dentro ou para fora de uma célula é a diferença entre o potencial químico (μ_s) no interior e no exterior da célula (figura 31).



Para solutos sem carga teremos:

$$\Delta\mu_s = (\mu_s^* + RT \ln C_s^i) - (\mu_s^* + RT \ln C_s^o) \quad (\text{equação 5}), \text{ ou}$$

$$\Delta\mu_s = RT \ln(C_s^i/C_s^o) \quad (\text{equação 6})$$

ou seja, para solutos sem carga a força motriz é o gradiente de concentrações entre o interior (C^i) e o exterior (C^o).

Para solutos com carga teremos:

$$\Delta\mu_s = (\mu_s^* + RT\ln C_s^i + z_s F E^i) - \Delta\mu_s = (\mu_s^* + RT\ln C_s^o + z_s F E^o) \quad (\text{equação 7})$$

$$\Delta\mu_s = RT\ln(C_s^i/C_s^o) + z_s F(E^i - E^o) \quad (\text{equação 8})$$

O termo $E^i - E^o$ na equação anterior é frequentemente chamado **potencial de membrana** e é abreviado para V_m . Podemos ver que no caso de solutos carregados o movimento responde a duas forças independentes, a diferença de concentração de **s** através da membrana e o potencial de membrana. Isto quer dizer que a concentração do soluto **s** está apenas dependente desse mesmo soluto (**s**), mas qualquer outro soluto carregado pode modificar o potencial de membrana. A consequência deste facto é que o soluto **s** pode difundir-se para dentro e para fora duma célula contra o seu próprio gradiente de concentração se o potencial de membrana for favorável (Jones *et al.*, 2013).

3.3. O POTENCIAL DE MEMBRANA (V_m)

A taxa a que diferentes moléculas carregadas e iões atravessam uma membrana é frequentemente desigual, e mesmo pequenas diferenças na sua distribuição através da membrana podem originar um potencial de membrana. Na figura 32 podemos ver duas soluções de KCl de concentrações diferentes separadas por uma membrana que é mais permeável ao K^+ do que ao Cl^- . Neste caso ambos os iões se difundem ao longo de gradientes de concentração do compartimento A para o compartimento B, mas K^+ difunde-se através da membrana a uma taxa ligeiramente mais elevada que Cl^- dando origem a uma diferença de carga através da membrana. Pequenas diferenças na distribuição de cargas podem dar origem a diferenças significativas de potencial de membrana. Por exemplo, basta uma diferença através da membrana de 0,001% na concentração de aniões em relação a catiões para se produzir um potencial de membrana de -100 mV. O potencial de membrana da maioria das células vegetais varia entre -100 mV e -250 mV (Jones *et al.*, 2013)

3.4. A EQUAÇÃO DE NERNST

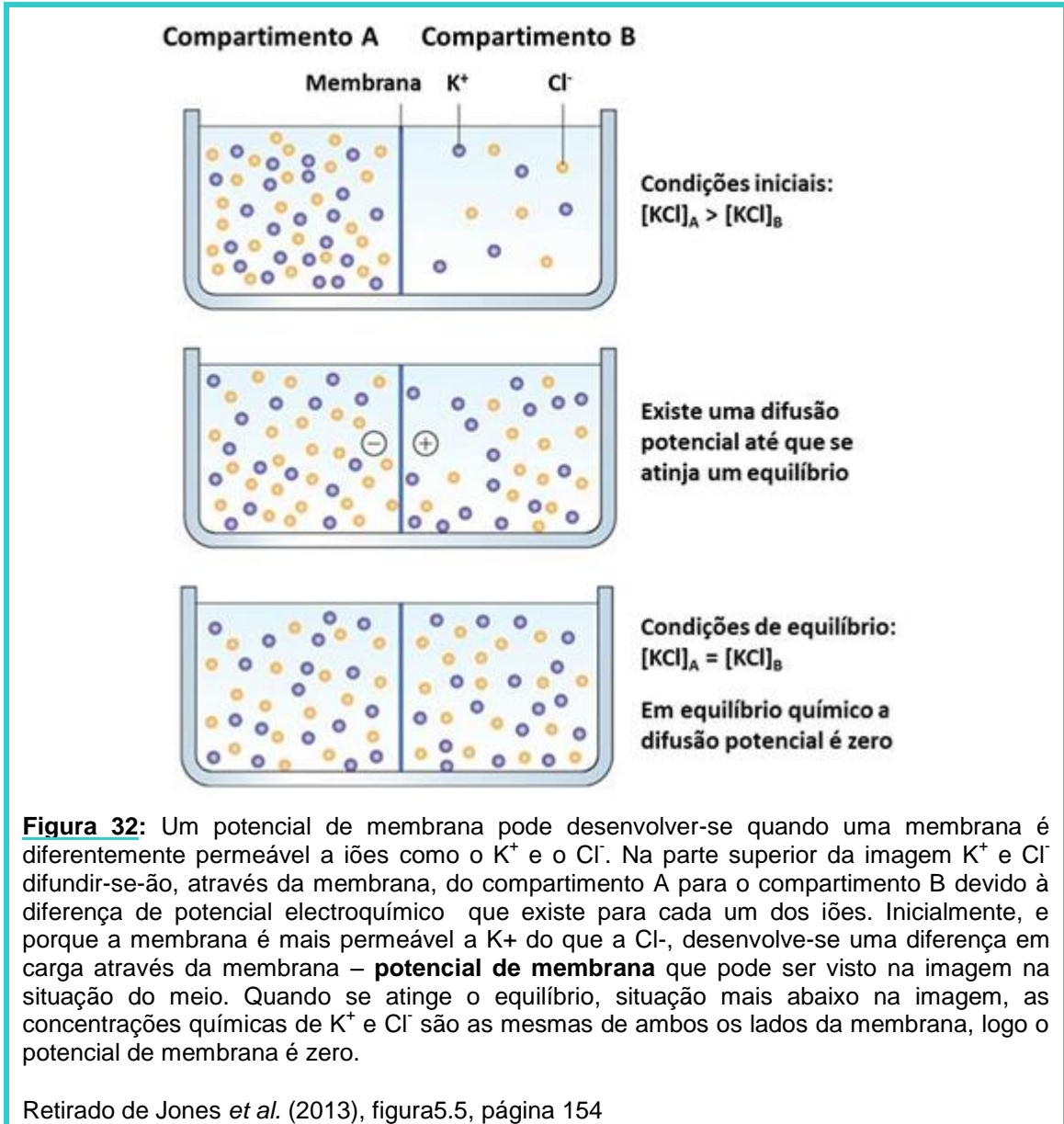
Os solutos em movimento por difusão para dentro e para fora da célula devem atingir um equilíbrio. Quando o equilíbrio entre o interior e o exterior para um dado soluto é atingido, $\Delta\mu_s$, é igual a zero. Assim, podemos alterar a equação 8 para:

$$RT\ln(C_s^i/C_s^o) = -z_s F(E^i - E^o) \quad (\text{equação 9}), \text{ ou}$$

$$\Delta E = [RT\ln(C_s^i/C_s^o)] / -(z_s F) \quad (\text{equação 10}), \text{ ou ainda}$$

$$\Delta E = [2,3 RT \log(C_s^i/C_s^o)] / - (z_s F) \quad (\text{equação 11})$$

conhecida por **Equação de Nernst**, e a expressão ΔE para um dado ião é conhecida como **Potencial de Nernst**.



A equação de Nernst tem grande interesse em fisiologia pois permite determinar se um dado ião se acumula ou não contra um gradiente de potencial electroquímico. Se medirmos o potencial de membrana de uma célula, assim como a concentração em certos solutos no interior (C^i) e no exterior (C^o) da célula podemos saber se o soluto é absorvido por transporte activo ou passivo ao longo do seu gradiente de potencial electroquímico (Jones *et al.*, 2013).

Se se assumir que a temperatura é a mesma nos dois lados da membrana, o que geralmente é verdade, então poderemos simplificar a equação 11 anterior para:

$$\log (C^i/C^o) = - z_s F \Delta E / 2,3RT \quad (\text{equação 12})$$

Na tabela 10 podemos ver o resultado de uma experiência com ervilheira (*Pisum sativum* L.) e aveia (*Avena sativa* L.) em que se determina a concentração real e se calcula (ver anexo 6) a concentração prevista pela Equação de Nernst. A razão entre o valor previsto e o medido indica até que ponto a equação de Nernst se aplica a determinado ião. É de notar que a razão de acumulação para a quase totalidade dos iões é superior a 1, indicando um certo grau de acumulação na célula.

Tabela 10: Absorção de certos iões pelas raízes de ervilheira (*Pisum sativum* L.) e aveia (*Avena sativa* L.). Utilizou-se a equação de Nernst (equação 12) para prever a concentração interna (C_p^i) assumindo que o potencial de membrana era de -0,110 mV e -0,84 mV respectivamente. A taxa de acumulação foi calculada (ver anexo 6) na base da concentração interna medida (C_m^i). O símbolo E na coluna do possível mecanismo de absorção quer dizer exclusão activa da raiz. O símbolo U quer dizer absorção activa pelas raízes. Adaptado de Hopkins e Hüner (2009), tabela 3.2, página 48

Ião	Exterior C^o	Interior Prevista C_p^i	Interior Medida C_m^i	Razão de acumulação	Medida/Prevista C_m^i/C_p^i	Possível mecanismo absorção
Raiz de ervilheira						
K ⁺	1,00	72,4	75,0	75,0	1,04	Difusão
Na ⁺	1,00	72,4	8,0	8,0	1,04	E
Ca ²⁺	1,00	5370,3	1,0	1,0	0,00019	E
NO ³⁻	2,00	0,0276	28,0	14,0	1014,49	U
H ₂ PO ⁴⁻	1,00	0,0318	21,0	21,0	1521,74	U
SO ₄ ²⁻	0,25	0,048x10 ⁻³	9,5	38,0	197,29x 10 ³	U
Raiz de aveia						
K ⁺	1,00	26,3	66,0	66,0	2,51	Difusão ?
Na ⁺	1,00	26,3	3,0	3,0	0,11	E
Ca ²⁺	1,00	691,8	1,5	1,5	0,0022	E
NO ³⁻	2,00	0,076	56,0	28,0	736,84	U
H ₂ PO ⁴⁻	1,00	0,038	17,0	17,0	447,37	U
SO ₄ ²⁻	0,25	0,00036	2,0	8,0	5555,56	U

Apenas no caso do potássio, encontramos uma razão entre a concentração interna prevista e medida perto de 1. Isto indica que o potássio está perto do equilíbrio electroquímico e foi acumulado passivamente, pelo menos nas raízes de

ervilheira. Nas raízes de aveia pode ter havido alguma acumulação activa deste ião. As concentrações celulares de sódio e cálcio são mais baixas que as previstas. Como há dados que apontam para a existência de “bombas” para o sódio e o cálcio na membrana, poderemos pensar que estes dois iões entram passivamente ao longo de gradientes electroquímicos mas que são, em seguida, activamente expelidos. As concentrações internas para os três aniões são muito mais elevadas que as previstas indicando que são absorvidos activamente pelas células. Isto é compreensível, se considerarmos que é necessário energia para ultrapassar o potencial transmembranar e para mover iões carregados negativamente para o ambiente, predominantemente negativo, que existe no interior duma célula (Hopkins e Hüner, 2009).

Apesar destes resultados indicarem se o transporte de um dado ião é activo ou passivo, são necessários outros testes para confirmação. Como o transporte activo requer uma entrada de energia metabólica é sensível tanto ao teor em oxigénio como à presença de inibidores da respiração. Assim, a inibição da absorção de um ião na ausência de oxigénio ou na presença de cianeto ou o 2,4-dinitrofenol é comprovativo de transporte activo (Hopkins e Hüner, 2009).

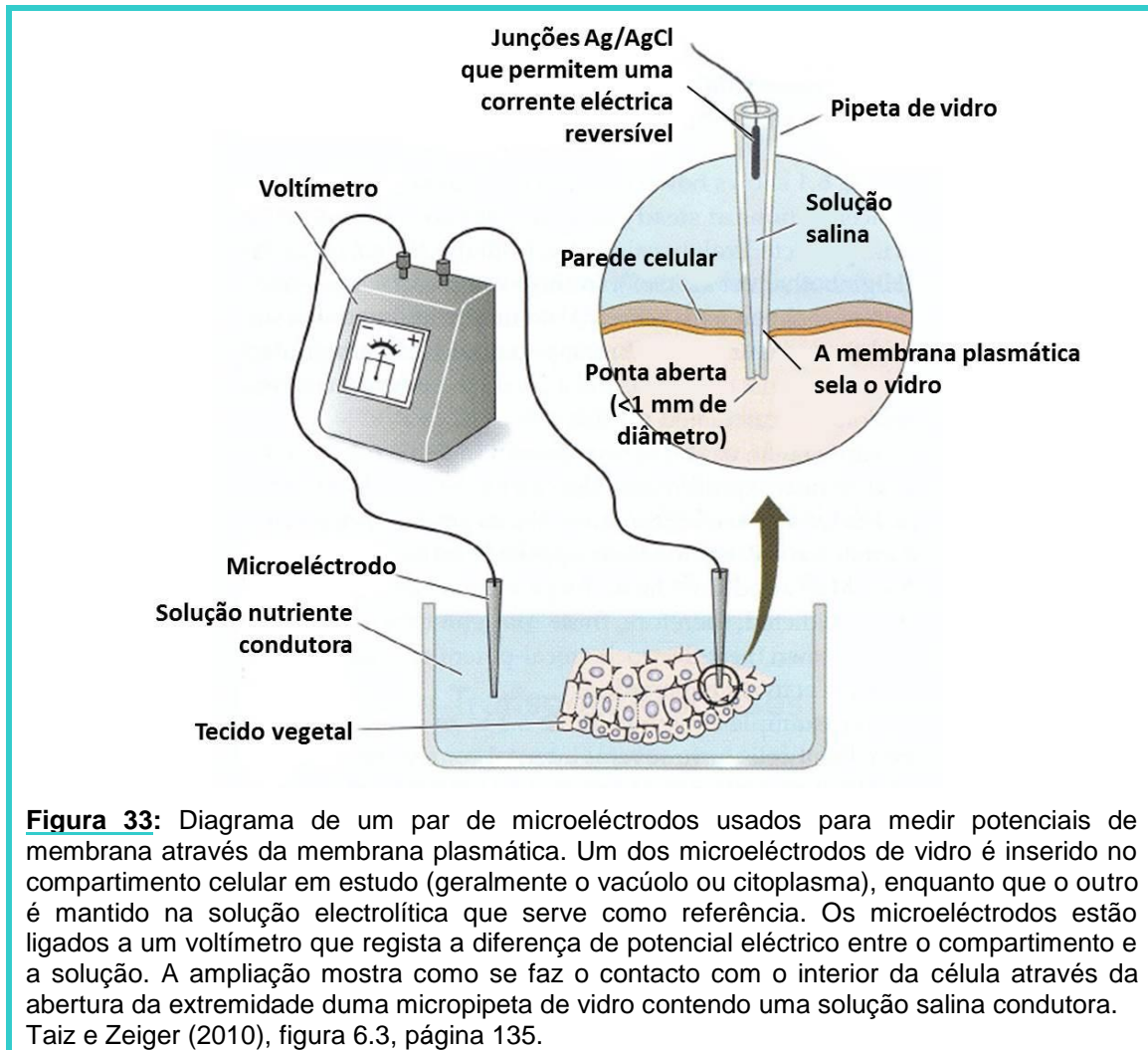
É de notar que quando se conhecem as concentrações interna e externa de um dado ião poderemos estimar o potencial transmembranar que esse ião causou. Por exemplo, para um catião monovalente a 25 °C o potencial de Nernst pode ser reescrito como:

$$\Delta E = 59 \text{ mV } \log(C_s^i/C_s^o) \quad (\text{equação 13})$$

Se tivermos uma diferença de concentração de 10 corresponde, então teremos um potencial de Nernst de 59 mV $[(C_s^i/C_s^o)] = 10/1 = 10 \Rightarrow \log 10 = 1$. Podemos então dizer que um potencial de membrana de 59 mV mantém um gradiente de concentração de 10 dum ião cujo movimento através da membrana é causado por difusão passiva. Mas podemos igualmente dizer que, se existir um gradiente de concentração de 10 dum dado ião através duma dada membrana, nestas condições, isto causará uma difusão passiva desse ião ao longo do gradiente. Se for possível chegar-se a uma situação de equilíbrio, então estabelece-se uma diferença de 59 mV através da membrana (Taiz e Zeiger, 2010).

O potencial de membrana pode determinar-se inserindo microelctrodos na célula e medindo a diferença de voltagem entre o interior da célula e o meio exterior, como se pode ver na figura 33 (Taiz e Zeiger, 2010).

De facto, o cálculo do potencial de membrana é mais complicado uma vez que existem iões de espécies diferentes, com diferentes permeabilidades, a passarem a membrana ao mesmo tempo em direcções que podem ser opostas.



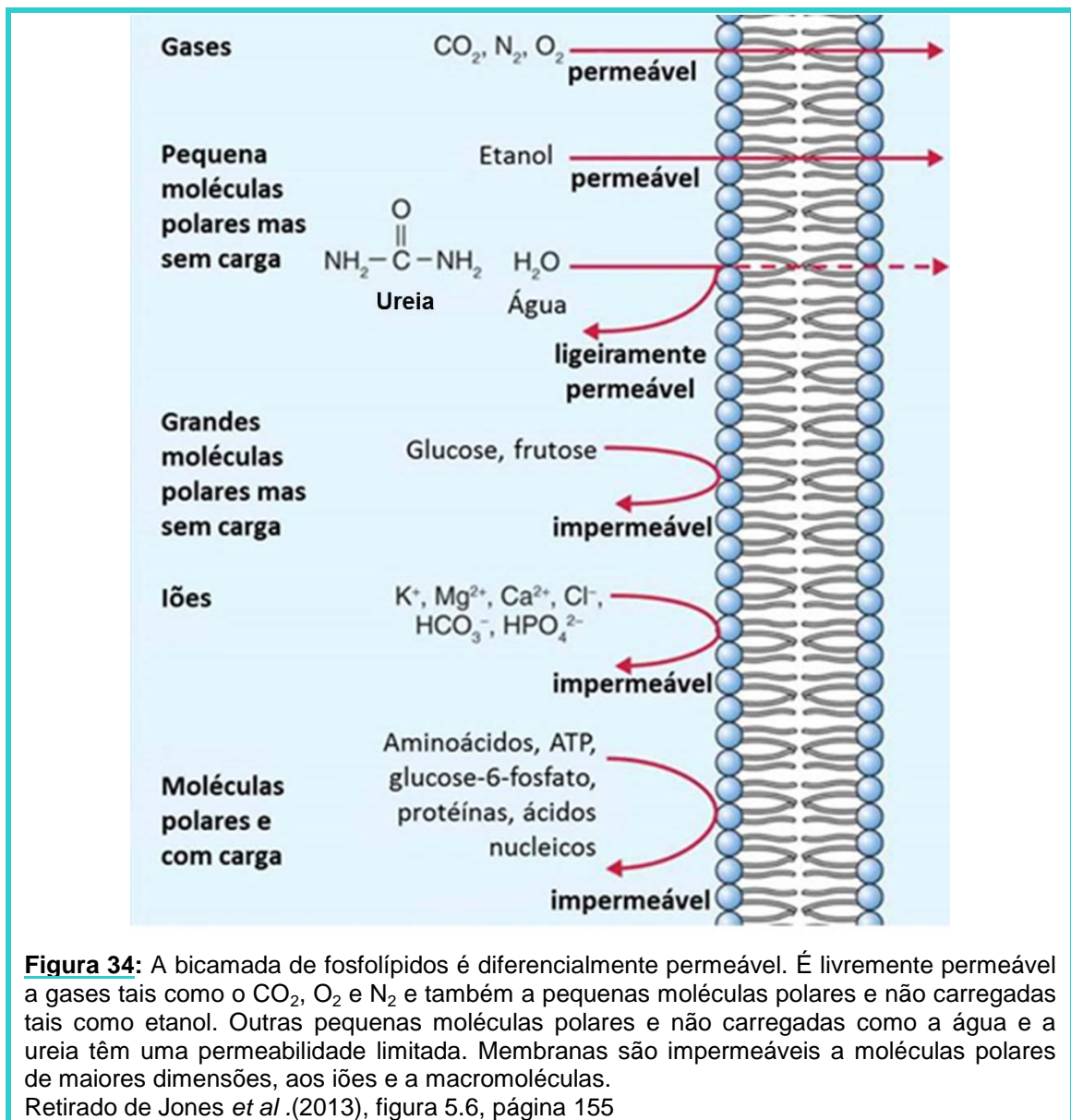
Assim, devemos ter em consideração as contribuições de todos os iões para o potencial de difusão através da membrana, o que nos é dado pela **Equação de Goldman**:

$$\Delta E = \frac{RT}{F} \left(\ln \frac{P_{K^+} C_{K^+}^o + P_{Na^+} C_{Na^+}^o + P_{Cl^-} C_{Cl^-}^o}{P_{K^+} C_{K^+}^i + P_{Na^+} C_{Na^+}^i + P_{Cl^-} C_{Cl^-}^i} \right) \text{ (equação 14)}$$

em que P_{K^+} , P_{Na^+} e P_{Cl^-} são as permeabilidades da membrana para K^+ , Na^+ e Cl^- respectivamente. Embora esta equação devesse incluir termos para todos os iões que passam a membrana. Apenas o K^+ , o Na^+ e o Cl^- estão representados na equação porque têm os valores mais elevados de permeabilidade membranar, bem como as concentrações mais elevadas nas células vegetais (Taiz e Zeiger, 2010).

4. MECANISMOS DE TRANSPORTE MEMBRANAR

As membranas biológicas são selectivamente permeáveis. As moléculas lipofílicas/hidrofóbicas tais como O_2 , CO_2 , N_2 , NH_3 e H_2O_2 movem-se com liberdade através da bicamada lipídica (figura 34). A bicamada lipídica é ainda permeável à água e a moléculas polares com uma certa dimensão, como é o caso da ureia. Desde que haja um gradiente de potencial químico favorável, estas moléculas difundem-se através da membrana até que não haja diferença nos seus potenciais químicos nos dois lados da membrana. Solutos carregados e moléculas polares de maiores dimensões não se difundem facilmente através das membranas (Jones *et al.*, 2013).



Membranas artificiais feitas exclusivamente por fosfolípidos têm sido utilizadas para estudar a permeabilidade membranar. Quando se compara a permeabilidade a iões e moléculas de membranas artificiais e de membranas biológicas verificamos que existem algumas semelhanças, mas também diferenças.

Na figura 35 podemos observar que ambas as membranas têm permeabilidades semelhantes a moléculas não polares e a pequenas moléculas polares. No entanto, as membranas biológicas são muito mais permeáveis aos iões, à água e a moléculas polares de maiores dimensões, como é o caso dos açúcares. A explicação para este facto é que as membranas biológicas ao contrário das artificiais têm **proteínas transportadoras** (Taiz e Zeiger, 2010).

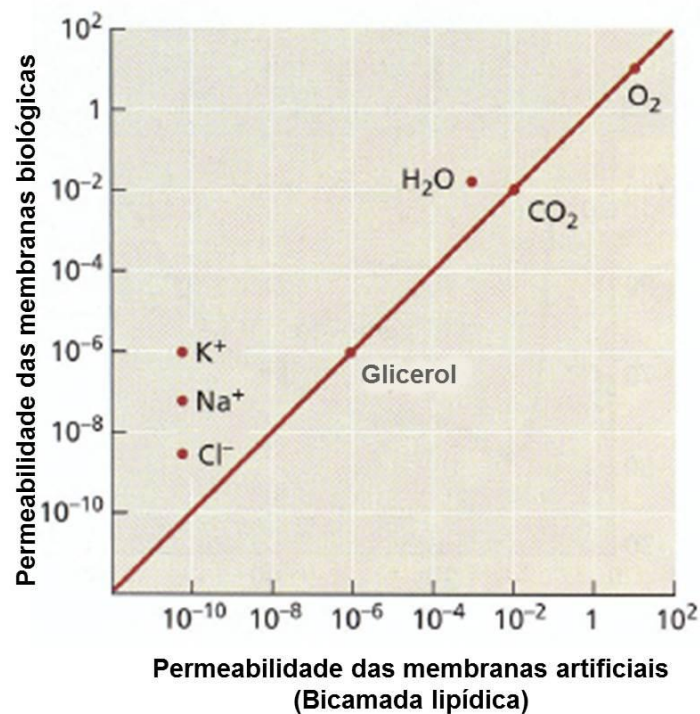
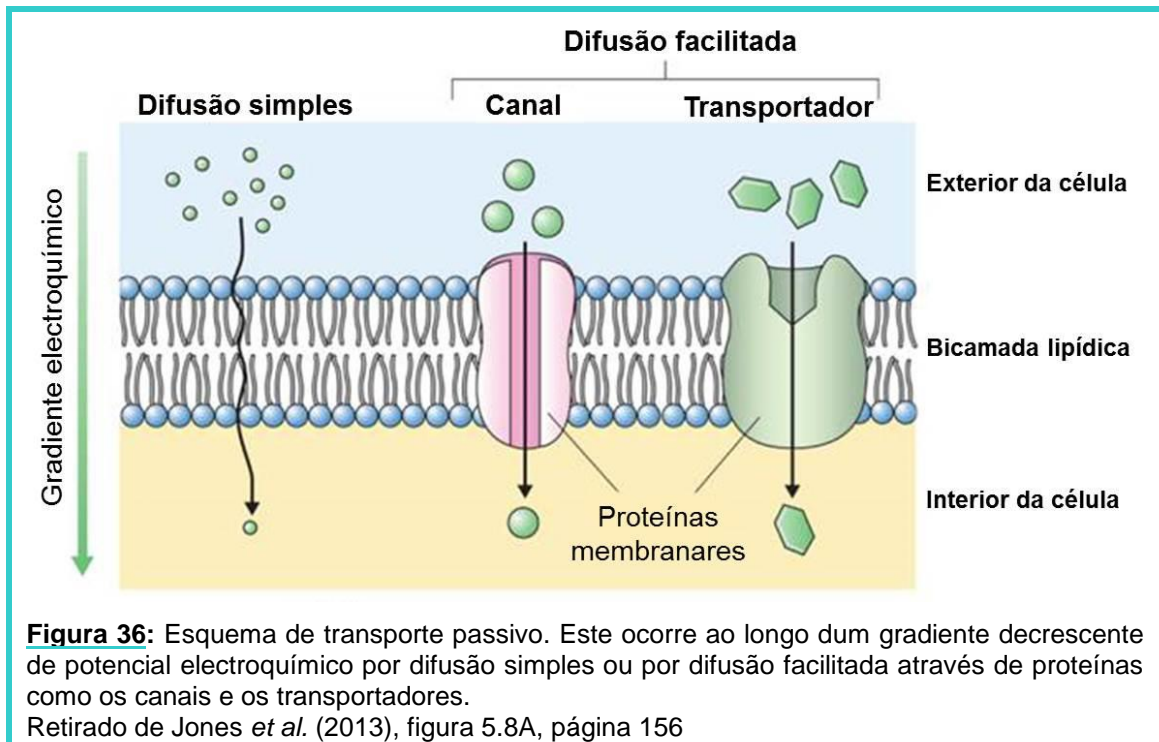


Figura 35: Valores de permeabilidade típicos de membranas biológicas comparados com os obtidos para membranas artificiais (bicamada de fosfolípidos). Para moléculas não polares pequenas como o O_2 e o CO_2 e para algumas pequenas moléculas polares como o glicerol, os valores de permeabilidade são semelhantes. No entanto, para iões e algumas moléculas polares, incluindo a água as membranas biológicas têm uma permeabilidade maior várias ordens de grandeza, devido à presença de proteínas transportadoras. É de notar que a escala é logarítmica.

Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 6.6, página 138

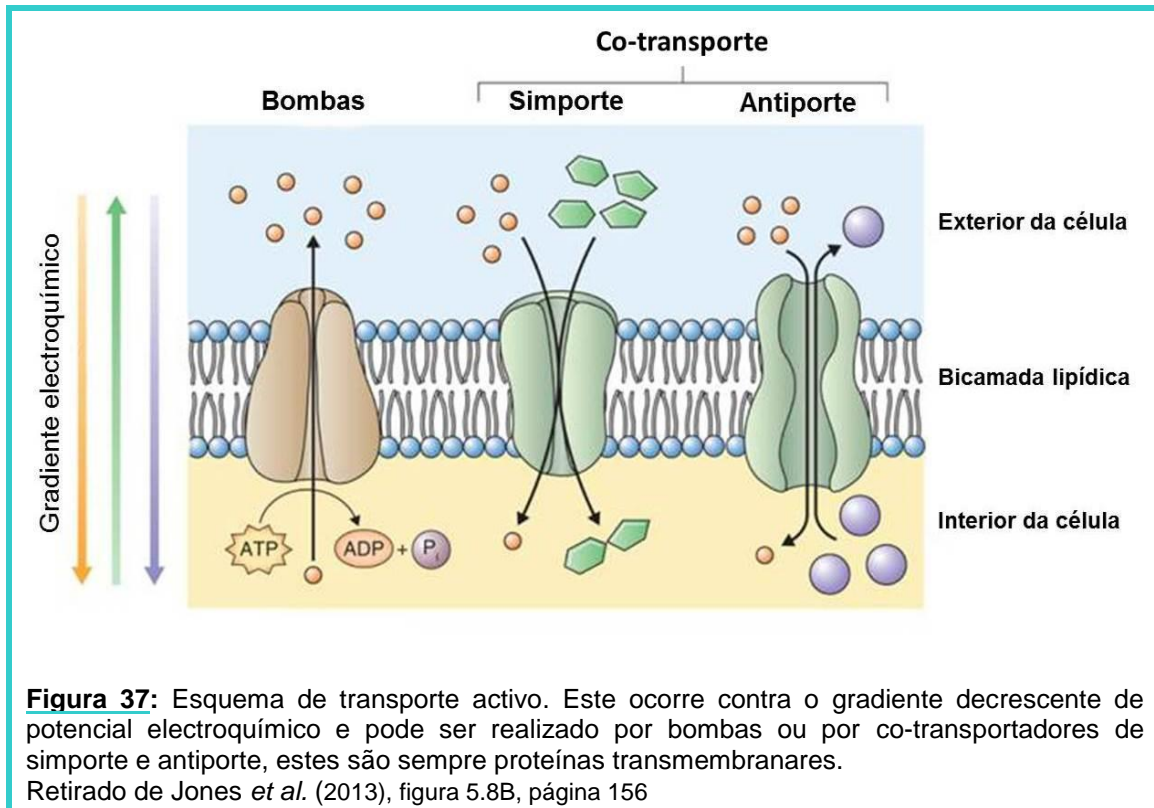
As proteínas transportadoras estão inseridas na membrana e consistem em blocos alternados de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos. Isto permite-lhes, por um lado, atravessar a bicamada de fosfolípidos e por outro lado terem domínios hidrofílicos expostos ao citosol ou ao lúmen de um organelo ou ainda ao exterior da célula (Taiz e Zeiger, 2010).

Como vimos anteriormente, os solutos podem atravessar a membrana por difusão ao longo dum gradiente decrescente de potencial electroquímico. Os solutos que atravessam livremente a membrana movem-se por **difusão simples**. Os que precisam de um transportador membranar movem-se por **difusão facilitada**. Existem dois tipos de transportadores na difusão facilitada: os **canais** (“channels”) e os **transportadores** propriamente ditos (“carriers”) que podemos ver esquematizados na figura 36 (Jones *et al.*, 2013).



Os transportadores proteicos podem também mover os solutos contra um gradiente de potencial electroquímico, com consumo de energia, no processo chamado **transporte activo** (figura 37). Este transporte pode ser subdividido em duas categorias: **transporte activo primário** e **transporte activo secundário**. Durante o transporte activo primário, ATP ou pirofosfato (Pi) é hidrolisado de forma a fornecer energia para estabelecer o gradiente iónico. As proteínas responsáveis pelo transporte activo primário são chamadas **bombas** (“pumps”). As proteínas responsáveis pelo transporte activo secundário são chamadas **co-transportadores** (“co-transporters”) e usam o gradiente iónico causado pelo transporte activo primário para mover um segundo ião contra o seu gradiente electroquímico. Estes co-transportadores movem dois solutos simultaneamente através da membrana, um no sentido decrescente do seu potencial electroquímico e outro no sentido contrário, isto é, contra o gradiente decrescente do potencial electroquímico. O movimento por co-

transporte pode ser dividido em dois grupos: **simporte** e **antiporte** (Jones *et al.*, 2013).



No movimento por simporte dois solutos atravessam a membrana na mesma direcção, enquanto no movimento por antiporte um soluto move-se numa direcção e outro na direcção oposta. Nas plantas, o transporte activo secundário normalmente utiliza gradientes de H^+ criados por bombas protónicas (Jones *et al.*, 2013).

4.1. DIFUSÃO FACILITADA

4.1.1. Os canais

Os canais são proteínas transmembranares que funcionam como poros selectivos através dos quais iões e moléculas podem atravessar a membrana. A especificidade do transporte é determinada pela dimensão do poro e pela densidade e natureza das cargas de superfície do seu revestimento interno. O transporte através de canais é sempre passivo (Taiz e Zeiger, 2010). Como há pouca interacção entre o canal e o ião, o seu transporte é extremamente rápido, chegando aos 10^8 iões s^{-1} . É por isso ideal para o transporte muito rápido de grandes quantidades de iões e moléculas (Jones *et al.*, 2013).

Os canais de iões estão distribuídos de forma ubíqua nas membranas das células vegetais onde desempenham funções reguladoras de grande importância, como por exemplo:

1. regulam a concentração osmótica pela entrada ou saída de K^+ das células;
2. estabelecem a concentração do Ca^{2+} citosólico (assinaturas de cálcio, fundamentais na transdução de sinais).

A difusão de iões através de canais é fortemente afectada pelo potencial de membrana (V_m) ver equação 8, página 68. Como o potencial de membrana (V_m) da membrana plasmática é geralmente negativo, os catiões tendem a difundir-se para o interior e os aniões para o exterior. Os **canais de catiões** podem ser divididos entre os que são preferencialmente selectivos para o K^+ em relação a outros catiões monovalentes; os que são relativamente não selectivos a catiões monovalentes; e os que são selectivos ao Ca^{2+} . A maioria dos **canais de aniões** da membrana plasmática permitem a passagem duma grande variedade de aniões, incluindo o Cl^- , NO_3^- e aniões de ácidos orgânicos. Há no tonoplasto (membrana do vacúolo) canais específicos para o anião malato (Jones *et al.*, 2013)

4.1.1.1. O método de “Patch Clamp”

O uso do método de “patch clamp”⁹ permite obter informação sobre as membranas das células das plantas que não podem ser obtidas por outros meios. Os estudos de electrofisiologia convencionais, que vimos anteriormente (figura 33, página 72), são muito importantes para a medição de potenciais de membrana e outras propriedades eléctricas das células vegetais. No entanto, estes métodos têm limitações para a caracterização de bombas iónicas e canais de iões (Taiz e Zeiger, 2010).

Nesta técnica as paredes celulares são digeridas com enzimas apropriadas ficando o **protoplasto**, isto é, a célula vegetal nua. De seguida coloca-se a ponta duma micropipeta de vidro em contacto com a membrana plasmática do protoplasto (figura 38) e aplica-se uma ligeira sucção para facilitar a selagem entre a micropipeta e a membrana. A selagem entre a ponta da micropipeta e a membrana reduz o “ruído” eléctrico de fundo permitindo registos de alta resolução das correntes que se formam através dum simples canal iónico (Taiz e Zeiger, 2010).

Uma vez obtida uma selagem apertada, uma sucção mais forte pode remover a porção de membrana delimitada pela abertura da ponta da micropipeta, ficando o interior da célula exposta à solução contida na micropipeta (figura 39-A). Assim,

⁹ Em inglês “patch” quer dizer remendo e “clamp” quer dizer braçadeira ou grampo.

através da micropipeta, diferentes soluções podem ser introduzidas na célula. Nesta configuração, as correntes eléctricas que se podem medir reflectem a soma de todas as cargas eléctricas transportadas, activa ou passivamente, pelos fluxos de iões através da membrana plasmática de toda a célula (Taiz e Zeiger, 2010).

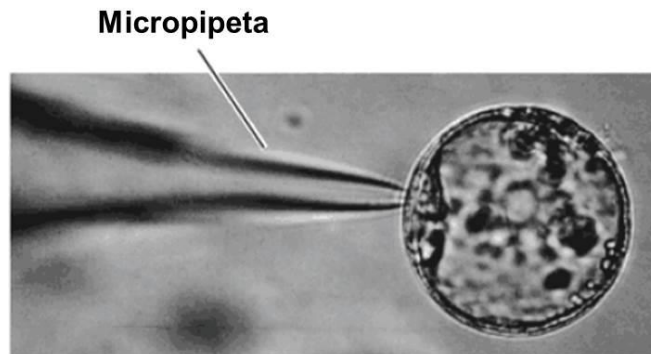


Figura 38: Micrografia duma micropipeta ligada à superfície dum protoplasto duma célula de aleurona.
Retirado de Taiz e Zeiger (2010), tópico 6.2, figura 6.2.A

Afastando o eléctrodo da célula obtém-se um pedaço de membrana (“patch”) ligado à ponta da pipeta e que fica exposto quer à solução da pipeta, quer à solução do meio (figura 39-B). Porque o pedaço de membrana contém apenas alguns canais,

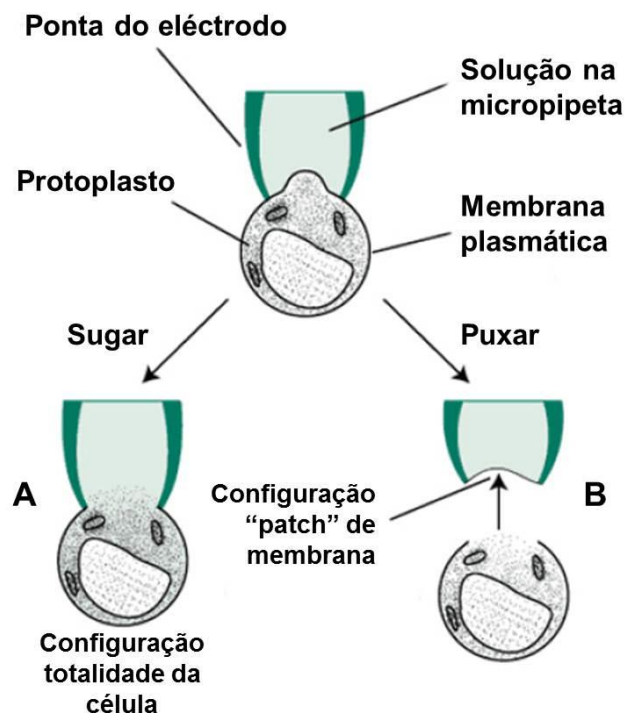


Figura 39: Diagrama do método de “patch clamp”. **A.** Configuração em que a totalidade da célula fica em contacto com o interior da micropipeta. **B.** Configuração “patch” da membrana em que esta fica em contacto com o interior da pipeta e com o meio.
Retirado de Taiz e Zeiger (2010), tópico 6.2, figura 6.2.B

esta configuração torna possível estudar as mudanças bruscas de corrente causadas pelo abrir ou fechar dum simples canal iónico. É de notar que esta técnica é suficientemente sensível para detectar a mudança de conformação dum simples molécula de proteína!

O movimento de iões através dos canais resulta numa corrente. Esta corrente serve para medir a actividade do canal. A corrente é função do potencial de membrana e da resistência que a membrana oferece. Pode usar-se a Lei de Ohm¹⁰ para modelar o movimento dos iões através da membrana. A resistência da membrana a um dado ião depende da selectividade a esse ião e do número de canais. Não haverá corrente se a membrana for completamente impermeável, e se for totalmente permeável R será igual a 0 e $I = V$.

4.1.1.2. Abertura e fecho dos canais

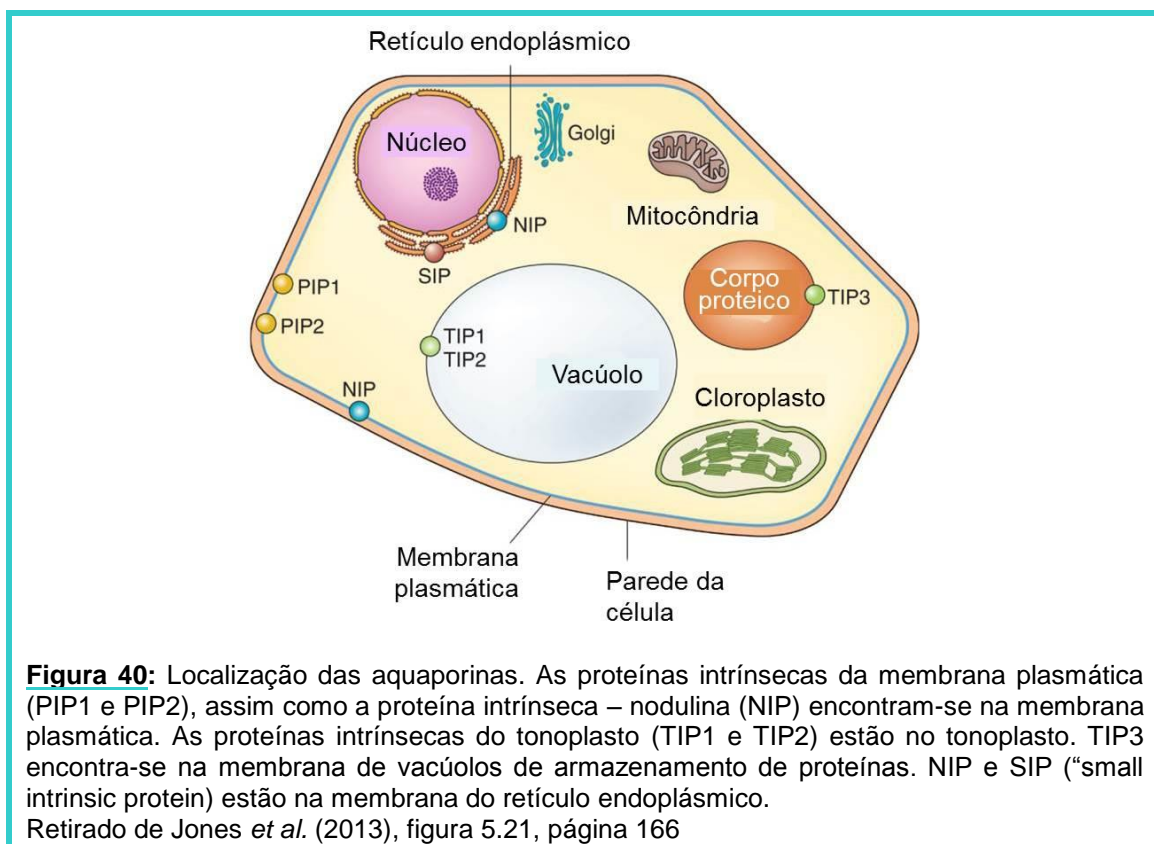
Como vimos anteriormente, os canais de iões permitem a passagem dum grande número de iões por unidade de tempo (10^8 iões s^{-1}) e por isso têm de ser fortemente regulados. As estruturas que permitem abrir ou fechar os canais têm o nome de **comportas** (“gates”). Os canais de potássio dependentes da voltagem são muito importantes para manterem o potencial de membrana (V_m) das células, uma vez que qualquer alteração no V_m pode ser compensada pela abertura ou fecho dos canais que funcionam, assim, como válvulas por permitirem o movimento de K^+ para dentro ou para fora das células em resposta a uma alteração de V_m . Os canais que permitam o movimento de potássio para o interior são chamados **canais de potássio rectificadores de influxo**, os que permitem o movimento do potássio para o exterior são chamados **canais de potássio rectificadores de efluxo**. Ao abrir e fechar, em função da voltagem, estes canais permitem a manutenção dum V_m constante. Por outro lado, alterações no V_m permitem regular a concentração osmótica ao alterarem o gradiente de potencial electroquímico dos iões (Jones *et al*, 2013).

Os canais também podem abrir em resposta a compostos que se ligam ao canal como fitohormonas, mensageiros secundários (ex: inositol trifosfato – IP₃, Ca²⁺), Proteínas-G, etc. Há ainda canais que são sensíveis ao “esticar” da membrana e por isso abrem e fecham em função da turgidez das células (Jones *et al*, 2013).

¹⁰ $I = V/R$, em que I é a intensidade da corrente, V é o potencial da membrana e R é a resistência da membrana.

4.1.1.3. As Aquaporinas

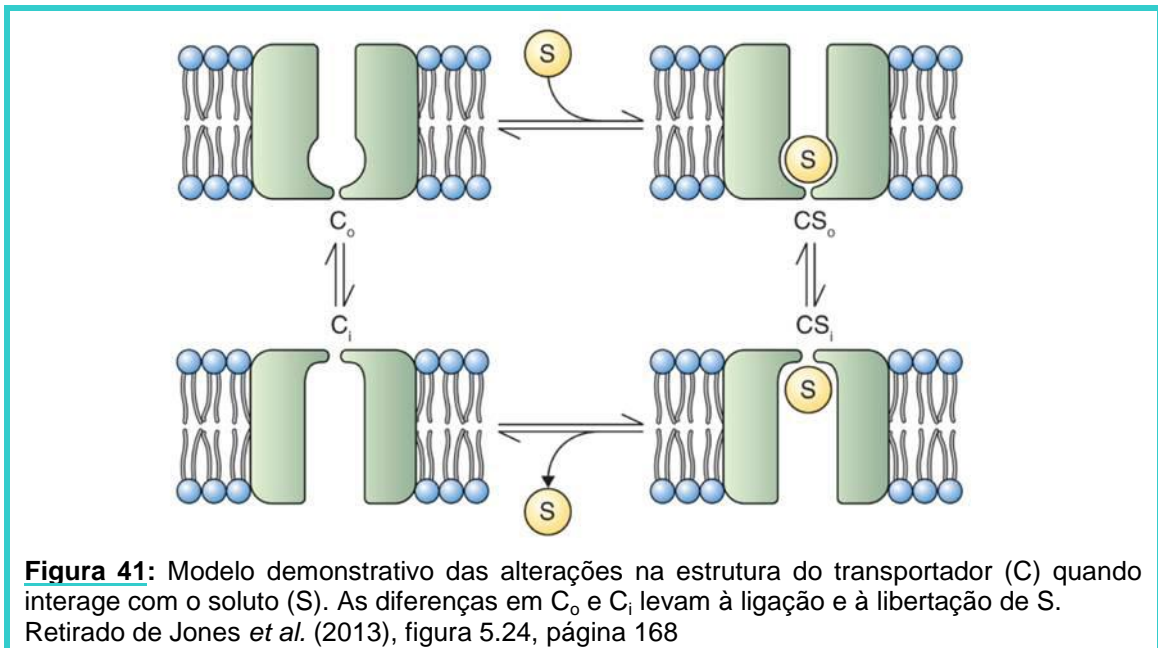
As membranas das células vegetais têm poros especiais para a passagem da água chamados **aquaporinas** e que podem ser encontradas na membrana plasmática, no tonoplasto e na membrana do retículo endoplásmico. Existem quatro grupos de aquaporinas (figura 40): as **TIPs e PIPs** são proteínas intrínsecas respectivamente do tonoplasto e da membrana plasmática; as **NIPs** estão presentes nas membranas peribacteróides dos nódulos fixadores de azoto embora possam também existir em plantas não fixadoras de azoto e finalmente as **SIPs** (“small intrinsic proteins”) encontram-se na membrana do retículo endoplásmico.



4.1.2. Os transportadores (“carriers”)

As proteínas transportadoras (“carriers”), ao contrário dos canais, não têm poros que atravessam completamente a membrana. Este tipo de transporte exige uma ligação da substância transportada a um local próprio do transportador. Esta necessidade de ligação implica que os transportadores são muito mais selectivos que os canais, especializando-se no transporte de determinados iões ou moléculas orgânicas. A ligação causa uma alteração na conformação da proteína (figura 41)

que leva a substância para o outro lado da membrana. O transporte completa-se quando a substância se separa do local de ligação (Taiz e Zeiger, 2010).



Devido à alteração da conformação da proteína necessária para que ocorra o transporte dum molécula ou dum ião, a taxa de transporte por transportador é muitas ordens de grandeza inferior à dos canais – 100 a 1000 partículas por segundo. O ligar e desligar do soluto à proteína transportadora é muito semelhante ao que acontece entre as enzimas e os solutos numa reacção catalisada por enzimas (Jones *et al.*, 2013).

4.2. TRANSPORTE ACTIVO

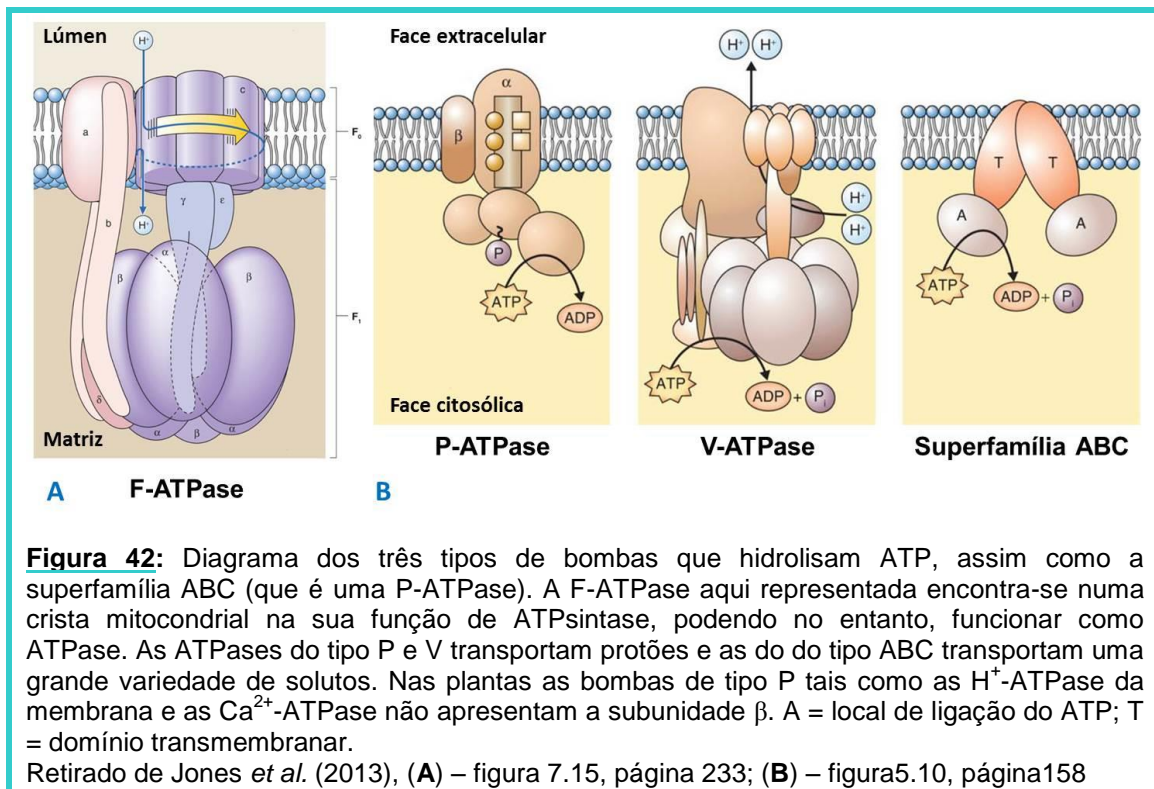
4.2.1. Transporte activo primário – as bombas

As bombas movem solutos contra o seu gradiente electroquímico. Elas ligam-se ao soluto a transportar e hidrolisam ATP ou pirofosfato como fonte de energia. A taxa de transporte dum bomba é da ordem das dezenas a centenas de moléculas ou iões por segundo. Encontram-se bombas em praticamente todas as membranas celulares. As bombas que hidrolisam ATP são de 3 tipos (figura 42) dependendo da sua estrutura, sensibilidade aos inibidores e mecanismo de acção (Jones *et al.*, 2013):

1. **Tipo F-ATPase** (ATPsintase) que se encontram nos cloroplastos e mitocôndrias têm múltiplas subunidades e são insensíveis ao inibidor vanadato;

2. **Tipo V-ATPase** encontram-se nos vacúolos e noutras membranas celulares e são relacionadas com as tipo F-ATPases sendo também insensíveis ao vanadato.

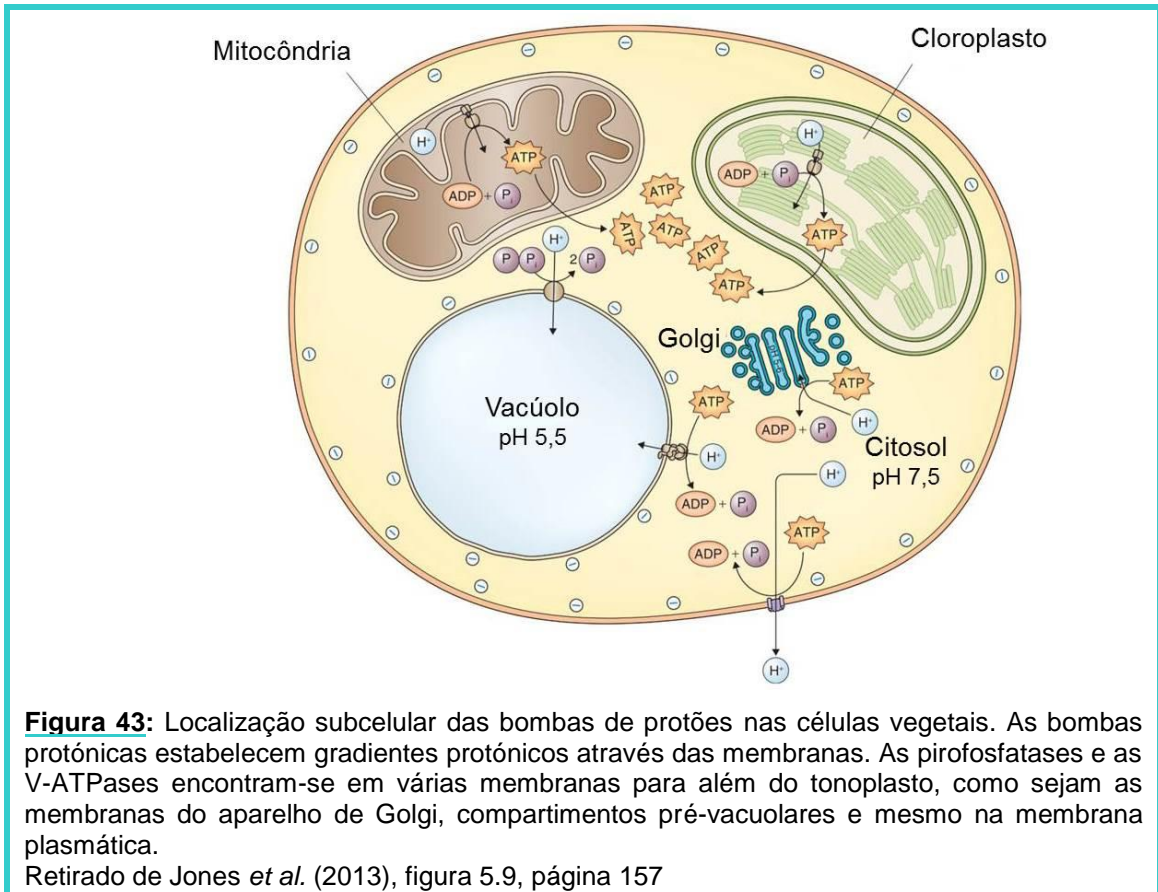
3. **Tipo P-ATPase** têm uma estrutura mais simples. Formam intermediários fosforilados depois da hidrólise do ATP e são inibidas pelo vanadato. Membros da **superfamília de transportadores ABC** são P-ATPases. Estes transportadores consistem em 4 domínios centrais, 2 que atravessam a membrana e dois que se encontram no citosol. Os domínios citosólicos ligam e hidrolisam ATP e a energia libertada permite o movimento do soluto através da membrana.



4.2.1.1. As bombas protónicas – (H⁺)ATPases e (H⁺)PPases

As bombas protónicas encontram-se nas membranas de vários organelos (figura 43). Os gradientes de concentração protónica transmembranar que originam são uma forma de utilização energética das células. Nas cristas mitocondriais e nos tilacóides dos cloroplastos quer a luz, quer energia química geram um gradiente de prótons transmembranar que é utilizado para a síntese de ATP por bombas protónicas (Jones *et al.*, 2013). No entanto, estas podem funcionar de forma reversa criando gradientes de prótons pela hidrólise de ATP (Milgrom, 2010). As bombas protónicas que existem noutras membranas celulares hidrolisam ATP (ATPases, figura 44) ou pirofosfato (Pirofosfatases) para transportar prótons para fora do

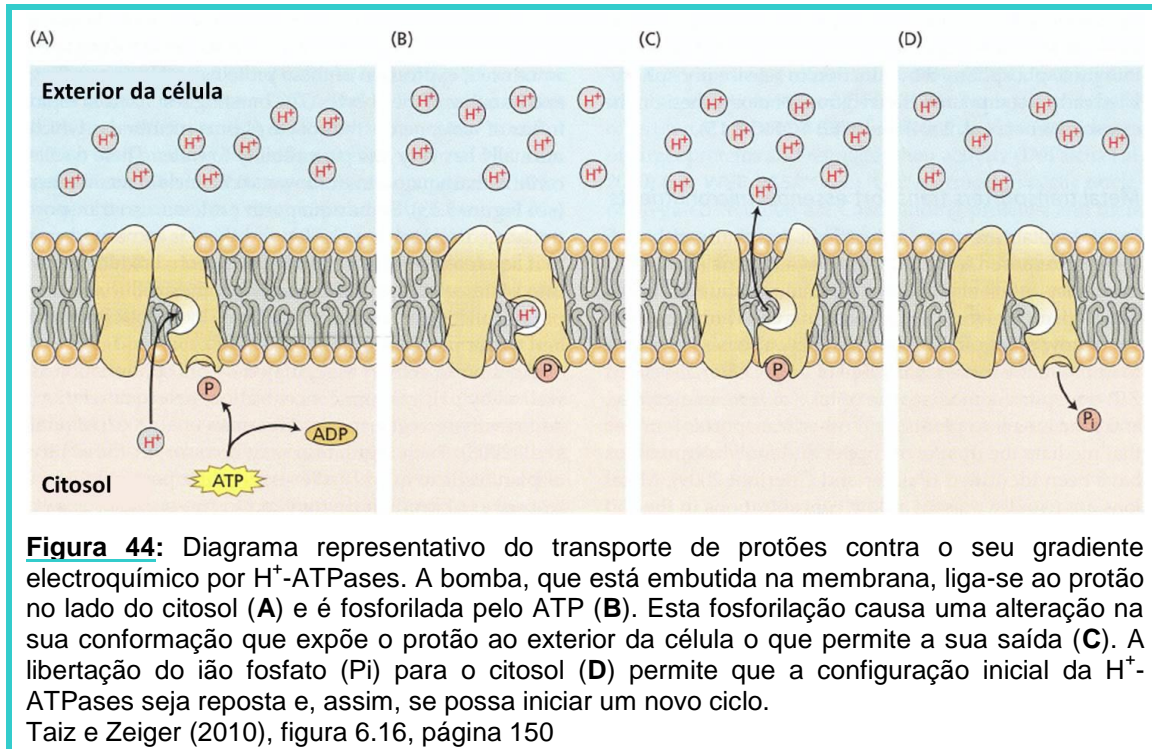
citossol). O gradiente electroquímico protónico assim formado tem o nome de força motriz protónica - fmp (“proton motive force – pmf”) (Jones *et al.*, 2013). Esta força motriz pode ser utilizada no transporte activo secundário de que falaremos mais à frente.



O transporte de prótons pelas bombas protónicas não é contrabalançado por nenhum anião, e por isso estabelece um gradiente de cargas que modifica o potencial de membrana. As bombas que criam um gradiente de cargas são chamadas **electrogénicas**. A actividade das bombas protónicas na membrana torna o seu V_m mais negativo, isto é, **hiperpolariza** a membrana. Se a actividade destas bombas diminui o V_m fica menos negativo e a membrana **despolariza**-se (Jones *et al.* 2013)

As bombas protónicas da membrana plasmática [(PM) H^+ -ATPase] são do tipo P-ATPase e são dependentes do Mg. Por cada ATP que é hidrolisado é bombeado um protão. A actividade destas bombas é fundamental nas actividades de transporte numa célula vegetal e é um consumidor muito importante de ATPs na célula (cerca de 30 a 50 % do ATP produzido numa célula). São estas bombas que estabelecem o fmp para o transporte activo secundário e que, por influenciarem o V_m , vão afectar a abertura dos canais de iões (Jones *et al.*,2013).

Outra função importante das (PM) H^+ -ATPases é a manutenção do pH do citosol em valores perto do 7 – 7,5 apesar de muitas reacções do metabolismo intermediário gerarem um excesso de protões. É interessante notar que o óptimo de pH para a actividade destas bombas é de cerca de 6,6, ou seja, uma acumulação de protões no citosol resulta na activação das bombas (Jones *et al.*, 2013).



As bombas protónicas do tipo V (V-ATPases) encontram-se em quase todas as células vivas e têm uma origem comum com as F-ATPases. Estas ATPases bombeiam 3 protões por cada ATP hidrolisado. São bombas electrogénicas e contribuem para a fmp e V_m do tonoplasto (membrana do vacúolo).

Embora descritas inicialmente no vacúolo estas bombas protónicas estão fortemente distribuídas por todas as endomembranas das células vegetais, mas estão ausentes das mitocôndrias e dos cloroplastos. A actividade destas bombas permite a acumulação de aniões orgânicos como o malato, o oxalato e aniões inorgânicos como o cloreto. O pH dos vacúolos da maior parte das células vegetais é de cerca de 5,5, mas em vacúolos mais especializados, como o da lima (*Citrus spp*) o pH é de cerca de 1,7 e no caso de *Oxalis spp.* o pH pode estar entre 1,9 e 2,6 (Jones *et al.*, 2013).

As bombas protónicas pirofosfatases (H^+)PPases são abundantes no tonoplasto, no aparelho de Golgi, nos corpos multivesiculares e podem ser encontradas na membrana plasmática. Existem dois tipos de (H^+)PPases nas células vegetais: a do tipo I que é activada por K^+ citosólico e inibida por Ca^{2+} ; e a de tipo II

que é fortemente activada por Ca^{2+} e insensível ao K^+ . Pensa-se que estas bombas protónicas evoluíram para utilizarem o pirofosfato que é abundante nas células vegetais, com uma concentração que pode atingir os milimolar. A acção concertada das V-ATPases e das $(\text{H}^+)\text{PPases}$ acidifica o vacúolo e mantém o V_m do tonoplasto em cerca de 20 – 30 mV, sendo o vacúolo positivo em relação ao citosol (Jones *et al.*, 2013).

4.2.1.2. As bombas de cálcio Ca^{2+} -ATPase

O cálcio é um regulador muito importante das actividades celulares e porque forma sais insolúveis com o fosfato tem de ser mantido a concentrações muito baixas (na ordem do nanomolar). A sua concentração no citosol é regulada por um grande número de transportadores como a Ca^{2+} -ATPase que se pode encontrar em quase todas as membranas celulares, incluindo as membranas das mitocôndrias e dos cloroplastos. Pertence à família das P-ATPases e por cada ATP hidrolisado transporta dois iões Ca^{2+} através da membrana.

A função das bombas de cálcio é manter o cálcio citosólico na gama dos 50 – 200 nM bombeando o Ca^{2+} para fora das células ou para o interior de outros organelos. Existem duas classes de Ca^{2+} -ATPases nas plantas dependendo de se ligar ou não à calmodulina (CaM), um sensor de cálcio. É interessante notar que, os canais para o Ca^{2+} aumentam rapidamente a concentração em Ca^{2+} no citosol, mas são as bombas de Ca^{2+} que modulam o sinal de Ca^{2+} ao reduzirem rapidamente a sua concentração (Jones *et al.*, 2013).

4.2.1.3. Os transportadores ABC (ATP-binding cassette)

Os transportadores ABC constituem uma grande família de transportadores que hidrolisam o ATP e transportam uma variedade de moléculas orgânicas. São ATPases do tipo P e transportam solutos sem carga, não sendo por isso bombas electrogénicas. Foram encontradas inicialmente no vacúolo, mas actualmente sabe-se que se encontram também na membrana plasmática.

Entre os compostos transportados pela bombas ABC estão: catabolitos quer de antocianinas, quer de clorofilas; compostos antifúngicos; ceras para a superfície das células das folhas e ainda a fitohormona auxina.

Pensa-se que estes transportadores são importantes no sequestro de metabolitos potencialmente perigosos e moléculas de xenobióticos¹¹. Muitos

¹¹ Xenobióticos é uma palavra com origem no grego: *xenos*=estranho e *bios*=vida (Jones *et al.*, 2013)

compostos xenobióticos são inicialmente modificados pela adição do tripéptido glutaciona que actua como uma marca para o posterior transporte por uma bomba ABC. Entre os xenobióticos marcados pela glutaciona encontram-se os herbicidas sintéticos (Jones *et al.*, 2013).

4.2.2. Transporte activo secundário – co-transporte

Os co-transportadores estão envolvidos no transporte activo secundário em que o movimento dum soluto a favor do seu gradiente de potencial electroquímico está acoplado ao movimento doutro soluto contra o seu gradiente potencial electroquímico. As H⁺-ATPases da membrana plasmática e do tonoplasto bombeiam prótons para fora do citosol, criando um gradiente protónico através destas membranas. Os prótons tendem, então, a mover-se a favor do seu gradiente de potencial electroquímico através da membrana em direcção ao citosol. Os transportadores que catalisam o fluxo de solutos na mesma direcção do fluxo de prótons são chamados **transportadores por simporte** (figura 45). Os transportadores por simporte conduzem normalmente solutos do exterior para o

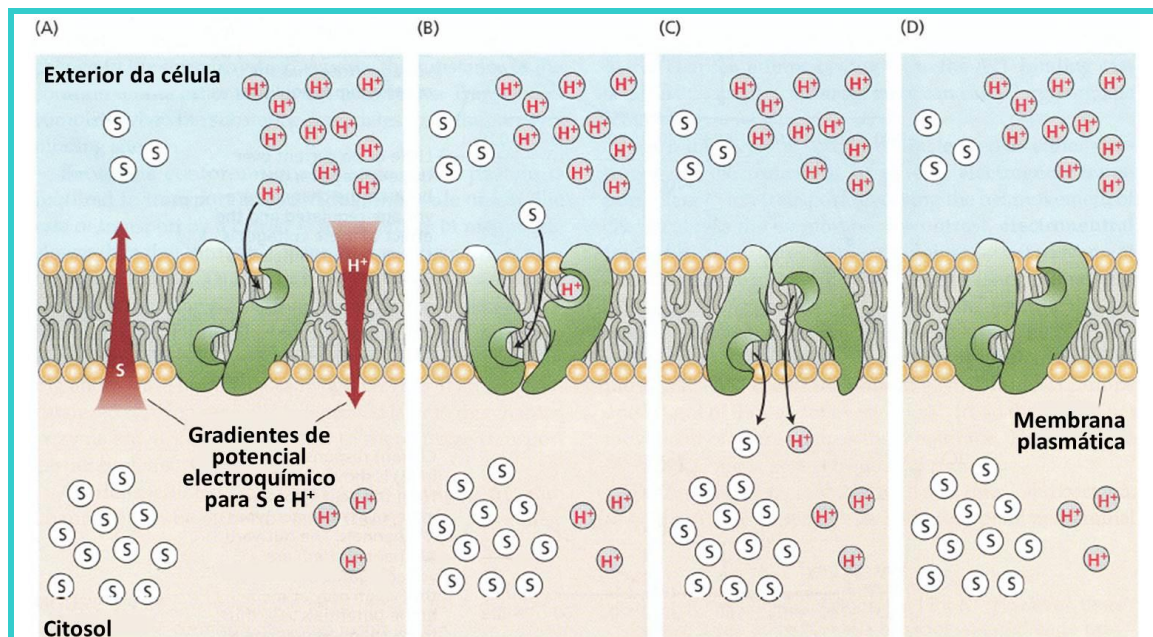


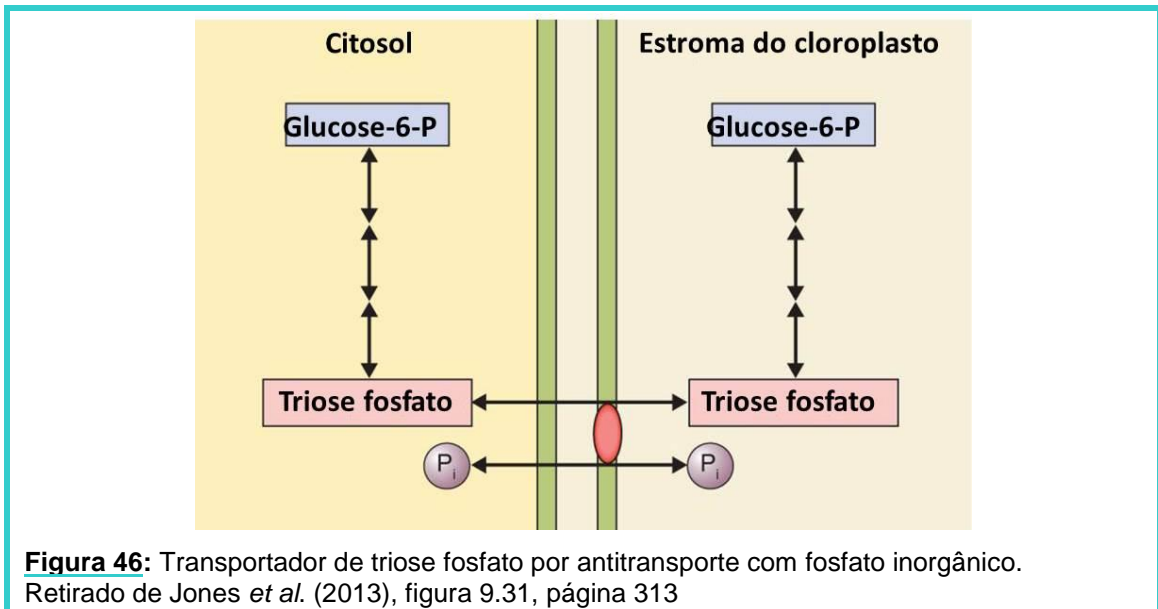
Figura 45: Modelo hipotético para o transporte activo secundário, neste caso transportador por simporte. A energia protónica (fmp) armazenada pela acumulação de prótons no exterior da célula e simbolizada pela seta vermelha à direita em (A) é utilizada para mover o soluto S contra o seu gradiente de potencial electroquímico [(seta vermelha à esquerda de (A)]. Na sua conformação inicial um protão liga-se à proteína (A). Desta ligação resulta uma alteração da sua conformação que permite a ligação da molécula S (B). A ligação de S causa uma nova alteração da configuração que expõe ambos os locais de ligação e respectivos solutos ao interior da célula (C). A libertação do protão e do soluto restaura a conformação inicial permitindo o início de um novo ciclo.

Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 6.10, página 142

citossol a partir do meio exterior ou de compartimentos celulares. Os transportadores por simporte incluem o par H^+ /sacarose que está envolvido na entrada (“loading”) de sacarose no floema; diferentes transportadores H^+ /anião e um certo número de transportadores H^+ /aminoácidos (Jones *et al.*, 2013).

O transporte de solutos para fora do citossol pode ser levado a cabo por **transportadores por antiporte** em que há um movimento em direcção oposta de prótons e solutos. Neste tipo de transporte estão incluídos o par H^+ / Ca^{2+} no tonoplasto e o par Na^+ / H^+ na membrana plasmática.

Para além do co-transporte que têm como energia um gradiente protónico, há também os que utilizam o gradiente de outros iões para darem energia para o transporte de outros substratos. É o caso da proteína mais comum do envelope cloroplastidial (figura 46) que transporta fosfato inorgânico num sentido e triose fosfato no outro (Jones *et al.*, 2013)



3ª PARTE: A ASSIMILAÇÃO DE NUTRIENTES MINERAIS

1. INTRODUÇÃO

A incorporação de nutrientes minerais em compostos orgânicos tais como pigmentos, cofactores de enzimas, lípidos, ácidos nucleicos e aminoácidos tem o nome de **assimilação de nutrientes minerais** (Taiz e Zeiger, 2010).

A assimilação de alguns nutrientes, particularmente azoto e enxofre, envolve uma série complexa de reacções bioquímicas que estão entre as que exigem mais energia num organismo vivo, por exemplo: 12 ATPs para a conversão do nitrato (NO_3^-) no radical amida do aminoácido glutamina; 10 ATPs para a fixação biológica do N_2 conjuntamente com a assimilação da amónia (NH_3) em amida de um aminoácido; 14 ATPs para a assimilação do sulfato (SO_4^{2-}) no aminoácido cisteína. Para se ter uma ideia da enorme energia envolvida nestas reacções, basta considerar a energia libertada se a reacção ocorrer em sentido inverso. Por exemplo, a conversão de nitrato de amónio (NH_4NO_3) a azoto molecular (N_2) é explosiva libertando vastas quantidades de energia em movimento, calor e luz. Praticamente todos os explosivos (nitroglicerina, TNT e pólvora) são baseados na oxidação rápida de compostos de azoto ou enxofre (Taiz e Zeiger, 2010).

A assimilação de outros nutrientes, especialmente catiões de macronutrientes e micronutrientes envolve a formação de complexos com compostos orgânicos. Por exemplo: o magnésio (Mg^{2+}) associa-se às clorofilas; o cálcio Ca^{2+} associa-se a pectatos dentro da parede celular e o molibdénio (Mo^{6+}) associa-se a enzimas como a nitrato redutase e nitrogenase (Taiz e Zeiger, 2010)

2. O AZOTO

O azoto é o quarto elemento mais abundante nos seres vivos, atrás do hidrogénio, carbono e oxigénio. A maior parte do azoto é proveniente dum reservatório que resulta da sua reciclagem pela decomposição de outros organismos. Novas entradas neste reservatório são devidas a reacções que acompanham acontecimentos naturais, como por exemplo o fogo ou as trovoadas, ou ainda pela actividade humana como por exemplo a combustão de combustíveis fósseis ou a

aplicação de fertilizantes químicos. Durante a a sua absorção e libertação pelos organismos vivos, o azoto passa por uma série de estados de oxidação e redução.

A camada mais externa do átomo de azoto tem 5 electrões que estão disponíveis para participar em ligações com outros átomos:

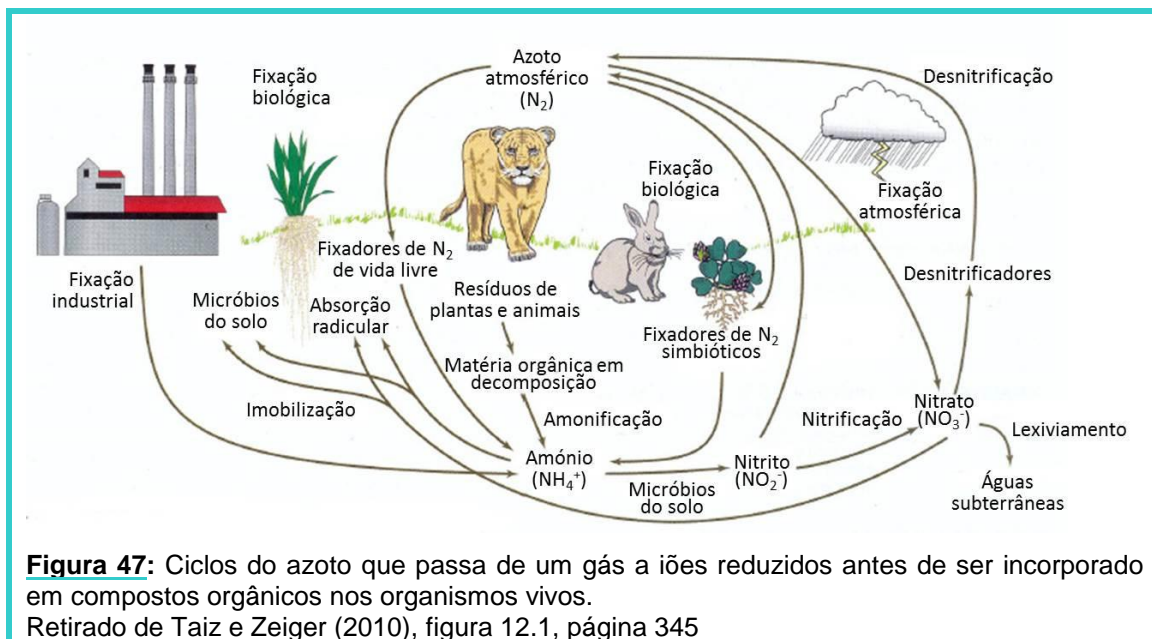
1. Partilha de electrões com elementos mais electronegativos como é o caso do oxigénio formando uma série de óxidos de azoto (NO_x) com uma oxidação máxima de +5 no caso do ião nitrato (NO_3^-);

2. Remoção de electrões de elementos menos electronegativos, como o hidrogénio, na formação do gás amónia (NH_3) e do amónio (NH_4^+), ou o carbono na formação de compostos orgânicos contendo azoto.

3. Ligação entre átomos de azoto formando o gás N_2 , o componente mais abundante da atmosfera terrestre (cerca de 78%). A ligação tripla $\text{N}\equiv\text{N}$ é extremamente estável e requer uma grande quantidade de energia para ser reduzida a uma forma orgânica.

2.1. O CICLO DO AZOTO

Como pode ser visto na figura 47, o azoto circula numa escala global passando por vários estádios, do azoto molecular a estado oxidados e reduzidos num ciclo biogeoquímico perpétuo (Jones *et al.*, 2013).



A maior parte do azoto atmosférico não está directamente disponível para os seres vivos. A aquisição do azoto da atmosfera para a formação de amónia (NH_3) ou nitrato (NO_3^-) exige a quebra da tripla ligação, que como vimos anteriormente, é

extremamente estável. Estas reacções conhecidas como **fixação do azoto**, podem ser levadas a cabo por processos industriais ou naturais (Taiz e Zeiger, 2010):

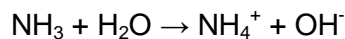
1. Processos industriais: exigem temperaturas muito elevadas (200 °C) e altas pressões (200 atm) em presença de um catalisador metálico, geralmente ferro, para que o N₂ se combine com hidrogénio para formar amónia – processo denominado de *Haber-Bosch*. Este processo é o ponto de partida para a formação de produtos industriais e agrícolas. A produção de fertilizantes agrícolas totaliza 100 x 10¹² g ano⁻¹

2. Processos naturais que fixam cerca de 190 x 10¹² g ano⁻¹ são:

a) Relâmpagos nas trovoadas – cerca de 8% do total de azoto fixo. Os relâmpagos convertem o vapor de água em radicais hidroxilo e oxigénio livre que reagem com o N₂ para formar ácido nítrico (HNO₃) que cai para a superfície da terra com a chuva.

b) Reacções fotoquímicas – cerca de 2% do total do azoto fixo. Reacção entre o óxido nítrico (NO) e o ozono (O₃) para produzir ácido nítrico (HNO₃).

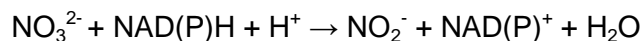
c) Fixação biológica do azoto – cerca de 90% do total de azoto fixo. Bactérias e algas azuis-verde (cianobactérias) fixam N₂ em amónia (NH₃) que se dissolve e reage com água para formar amónio (NH₄⁺):



2.2. A ASSIMILAÇÃO DO NITRATO

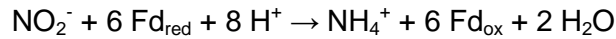
As raízes das plantas absorvem o nitrato do solo através de vários sistemas de co-transporte de alta e de baixa afinidade. Posteriormente, o nitrato será, na sua maior parte, assimilado em compostos orgânicos contendo azoto.

A primeira parte na assimilação do azoto é a redução do nitrato a nitrito, no citosol, pela enzima **nitrato redutase** que é a proteína contendo molibdénio (Mo) mais frequente nos tecidos vegetativos::



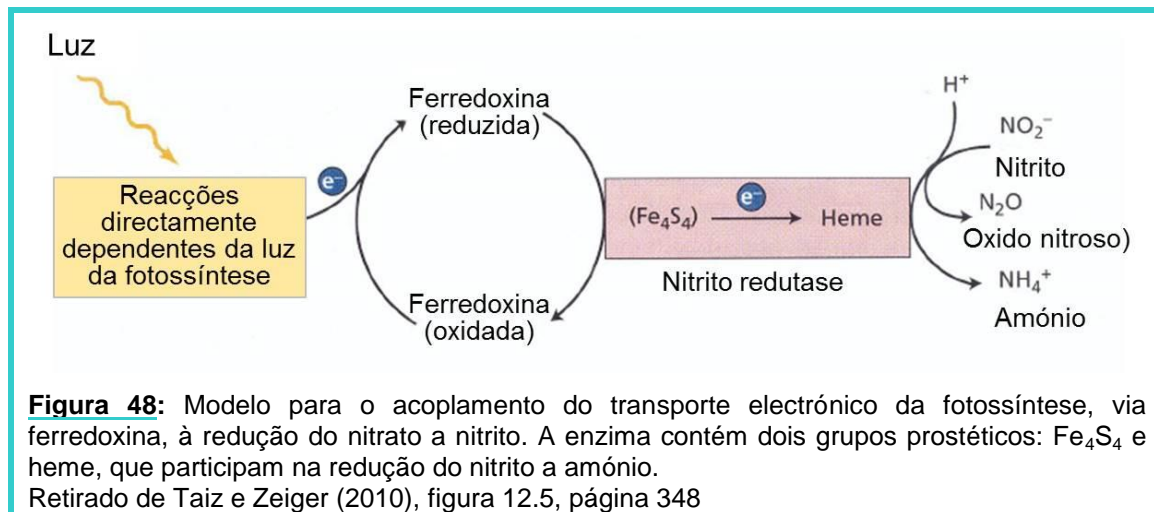
A forma mais comum da enzima usa NADH como dador de electrões, mas em tecidos não clorofilinos, como os das raízes, a enzima tanto usa NADH, como NADPH. A enzima nitrato redutase é influenciada por nitratos, luz e carboidratos quer a nível da transcrição, quer a nível da tradução (Taiz e Zeiger, 2010).

A segunda parte na assimilação do nitrato é a redução do nitrito a amónio. O nitrito (NO₂⁻) é um ião altamente reactivo e potencialmente tóxico. Assim que é formado nas plantas é imediatamente transportado do citosol para os cloroplastos nas folhas ou para os plastos das raízes. Nestes organelos a enzima **nitrito redutase** reduz o nitrito a amónio:



Em que Fd é ferredoxina¹² e Fd_{red} e Fd_{ox} representam respectivamente a ferredoxina reduzida e oxidada. A ferredoxina é reduzida no transporte electrónico nos cloroplastos e pelo NADPH formado pela via das pentoses fosfato (PPP) nos tecidos não clorofilinos (Taiz e Zeiger, 2010).

A enzima é diferente nos cloroplastos e nos plastos das raízes, mas em ambos os casos consiste num simples polipéptido contendo dois grupos prostéticos¹³: um grupo ferro-enxôfre (Fe₄S₄) e um grupo heme especializado. O fluxo de electrões através da ferredoxina, do grupo Fe₄S₄ e do grupo heme pode ser representado pela figura 48. Elevadas concentrações de nitrato ou exposição à luz induzem a transcrição de mRNA da nitrito redutase, e a acumulação de asparagina e glutamina reprimem esta transcrição (Taiz e Zeiger, 2010).



A terceira parte na assimilação do nitrato corresponde à assimilação do amónio e por isso é tratado no ponto a seguir.

2.3. A ASSIMILAÇÃO DO AMÓNIO

2.3.1. A via principal de assimilação do amónio

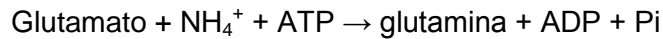
As plantas evitam a toxicidade do amónio, convertendo rapidamente em aminoácidos o amónio formado na assimilação do nitrato ou proveniente da fotorrespiração. A via principal para esta conversão envolve a acção, em sequência,

¹² Ferredoxina é uma pequena proteína solúvel na água e que contém ferro e enxofre e que desempenha um papel muito importante no transporte electrónico no fotossistema I (Taiz e Zeiger, 2010)

¹³ Grupo prostético é um ião metálico ou um pequeno composto orgânico diferente de um aminoácido que se liga covalentemente a uma proteína e é essencial para o seu funcionamento (Taiz e Zeiger, 2010)

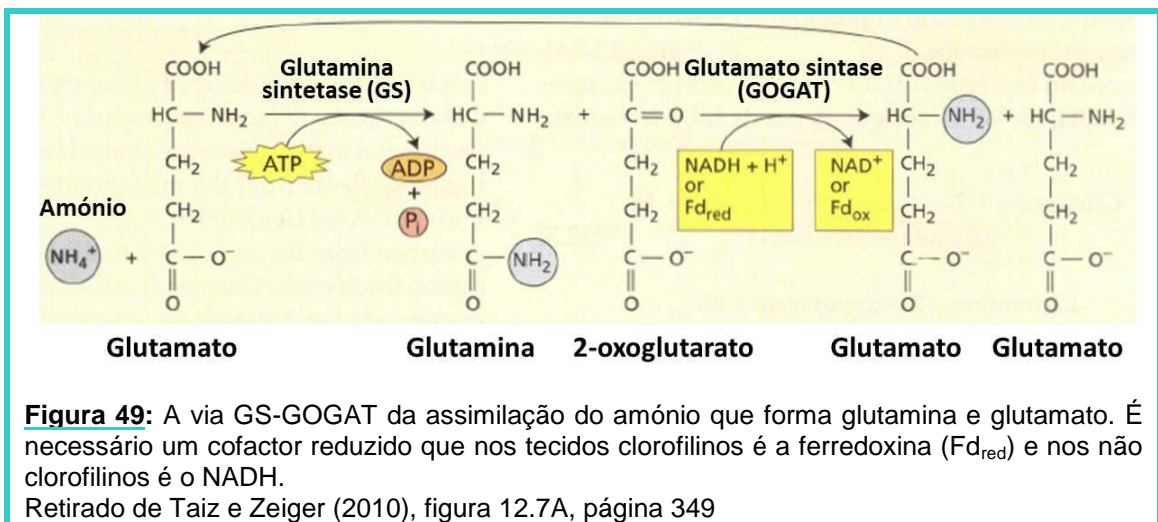
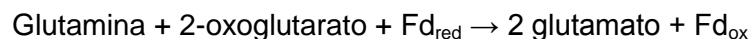
da **glutamina sintetase (GS)** e da **glutamato sintase (GOGAT)**. No entanto, existe uma via alternativa para a assimilação do amónio, como veremos mais à frente.

Na figura 49 podemos ver um esquema da via de assimilação do amónio envolvendo ambas as enzimas mencionadas mais acima. Inicialmente a glutamina sintetase combina amónio com glutamato para formar glutamina (Taiz e Zeiger, 2010).



Esta reacção envolve catiões divalentes (Mg^{2+} , Mn^{2+} ou Co^{2+}) como cofactores. As plantas têm dois tipos de GS, uma no citosol (**GS₁**) e outra nos plastos das raízes ou cloroplastos das folhas (**GS₂**). A luz e os níveis de carboidratos alteram a expressão da forma que ocorre nos plastos mas tem pouco efeito na forma que ocorre no citosol.

Níveis elevados de glutamina estimulam a activação da glutamato sintase (também conhecida em inglês por *glutamamin2:2-oxoglutarato aminotransferase*, ou **GOGAT**). As plantas têm dois tipos de GOGAT: uma aceita electrões do NADH e a outra da ferredoxina (Fd):

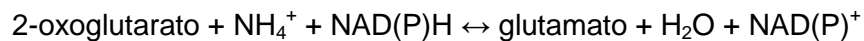


O tipo da enzima que utiliza NADH (NADH-GOGAT) está localizada nos plastos de tecidos não fotossintéticos, tais como raízes e bainhas dos feixes de folhas em desenvolvimento. Nas raízes o NADH-GOGAT está envolvido na assimilação de NH_4^+ absorvido da rizosfera; na bainha dos feixes vasculares de folhas em desenvolvimento, a NADH-GOGAT catalisa a assimilação da glutamina translocada das raízes e folhas em senescência (Taize e Zeiger, 2010).

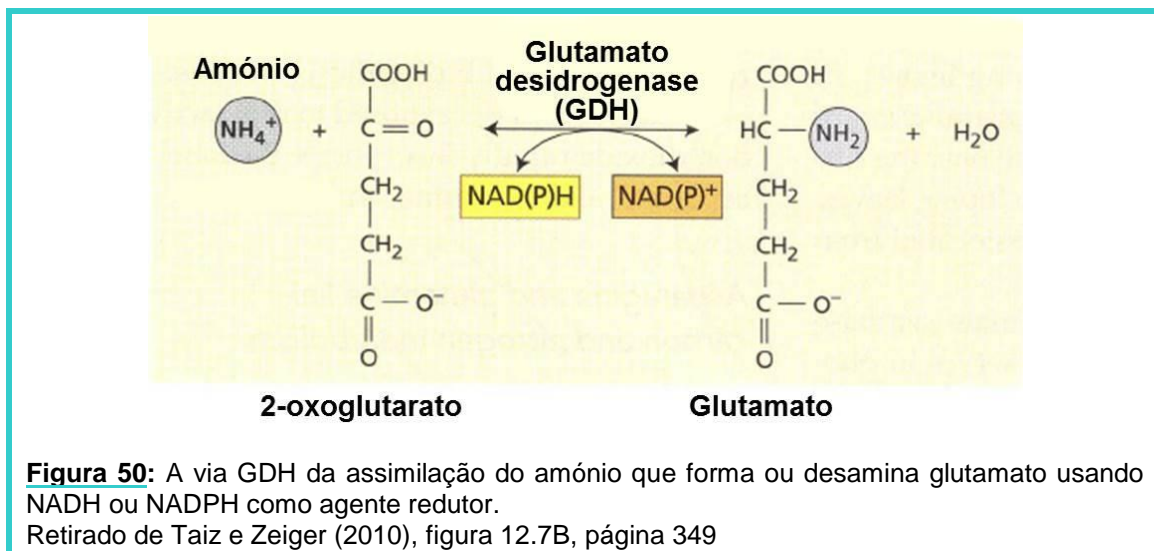
O tipo de enzima que utiliza ferredoxina (Fd-GOGAT) está presente nos cloroplastos e é utilizada no metabolismo do azoto fotorrespiratório. O nível e a actividade de ambos os tipos de enzima aumentam com o aumento da intensidade luminosa (Taiz e Zeiger, 2010).

2.3.2. A via alternativa de assimilação do amónio

A enzima **glutamato desidrogenase (GDH)** catalisa a reacção reversível que sintetiza ou desamina o glutamato (figura 50):



A forma de GDH dependente do NADH encontra-se nas mitocôndrias e a forma dependente do NADPH encontra-se nos cloroplastos dos órgãos fotossintéticos. Embora ambas as formas sejam relativamente abundantes não substituem a via GS-GOGAT para a assimilação do amónio, e por isso a sua função principal é a desaminação do glutamato durante a realocação do azoto (Taiz e Zeiger, 2010).



2.4. A TRANSAMINAÇÃO E FORMAÇÃO DE AMINOÁCIDOS

Uma vez assimilado em glutamina e glutamato o azoto é incorporado noutros aminoácidos por via de transaminações. As enzimas que catalisam estas reacções são chamadas **aminotransferases**. Estas enzimas podem ser encontradas no citosol, nos cloroplastos, mitocôndrias, glioxisomas e peroxisomas. Pensa-se que as aminotransferases dos cloroplastos têm um papel importante na biossíntese dos aminoácidos.

O grupo amino dos aminoácidos, grupo que contém o azoto, é proveniente de reacções de transaminação da glutamina e do glutamato, enquanto o "esqueleto"

carbonado dos aminoácidos é proveniente do 3-fosfoglicerato, fosfoenolpiruvato ou piruvato formados durante a glicólise, ou ainda do 2-oxoglutarato ou oxaloacetato formados durante o Ciclo de Krebs, também chamado Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos (TCA).

2.5. A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO AZOTO

A fixação biológica do azoto é responsável pela maior parte da conversão do azoto atmosférico em amónio e, por isso, é o ponto de entrada do azoto molecular no ciclo biogeoquímico do azoto (ver figura 46).

A tabela 11 mostra-nos exemplos de organismos fixadores de azoto molecular (N_2), chamados **diazotróficos**. A maioria destes organismos são procariotas que vivem no solo, geralmente de forma independente de outros organismos. Alguns formam associações simbióticas com plantas superiores em que os procariotas

Tabela 11: Exemplos de organismos capazes de fixarem azoto molecular (N_2)
Retirado de Taiz e Zeiger (2010), tabela 12.2, página 352

FIXAÇÃO SIMBIÓTICA DO AZOTO	
Planta Hospedeira	Simbionte fixador de azoto
Leguminosas: <i>Fabaceae</i> e <i>Parasponia</i>	<i>Azorhizobium</i> ; <i>Bradyrhizobium</i> ; <i>Photorhizobium</i> ; <i>Rhizobium</i> ; <i>Sinorhizobium</i>
Actinorrízicas: amieiro (<i>Alnus</i>); <i>Ceanothus</i> ; <i>Casuarina</i> ; <i>Datisca</i>	<i>Frankia</i>
<i>Gunnera</i>	<i>Nostoc</i>
<i>Azolla</i> (feto aquático)	<i>Anabaena</i>
<i>Saccharum</i> (cana de açúcar)	<i>Acetobacter</i>
<i>Miscanthus</i>	<i>Azospirillum</i>
FIXAÇÃO DE AZOTO POR ORGANISMOS LIVRES	
Tipo	Género fixador de azoto
Cianobactérias (algas azuis-verdes)	<i>Anabaena</i> ; <i>Calothrix</i> ; <i>Nostoc</i>
Outras bactérias:	
Aeróbicas	<i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Beijerinckia</i> ; <i>Derxia</i>
Facultativas	<i>Bacillus</i> ; <i>Klebsiella</i>
Anaeróbicas	
Não fotossintéticas	<i>Clostridium</i> ; <i>Methanococcus</i>
Fotossintéticas	<i>Chromatium</i> ; <i>Rhodospirillum</i>

fornece à planta azoto em troca de outros nutrientes e carboidratos (Taiz e Zeiger, 2010).

2.5.1. A formação de nódulos radiculares

A maior parte das plantas pode crescer em meio asséptico, uma vez que associações simbióticas não são essenciais para a sobrevivência das plantas, desde que lhes sejam fornecidos, em quantidades suficientes, os nutrientes minerais que precisam. Uma das relações simbióticas mais estudadas é a que ocorre entre plantas da família das **leguminosas** (*Fabaceae*) e as bactérias do solo colectivamente conhecidas como **rizóbios**, que são capazes de fixar azoto. Nas leguminosas as bactérias compatíveis existentes no solo invadem as raízes das plantas e induzem as células das raízes a dividirem e a produzirem **nódulos radiculares** (figura 51) que contêm **bacteróides**, isto é, formas modificadas das bactérias (sem paredes celulares). Dentro do nódulo da raiz os bacteróides fixam o azoto atmosférico, diatómico (N_2) em amónia (NH_3). Este processo requer grandes quantidades de energia porque os dois átomos de azoto estão ligados por uma tripla ligação que é difícil de quebrar. Os bacteróides retiram a energia que necessitam dos fotoassimilados das plantas e estas incorporam a amónia em aminoácidos (Jones *et al.*, 2013)

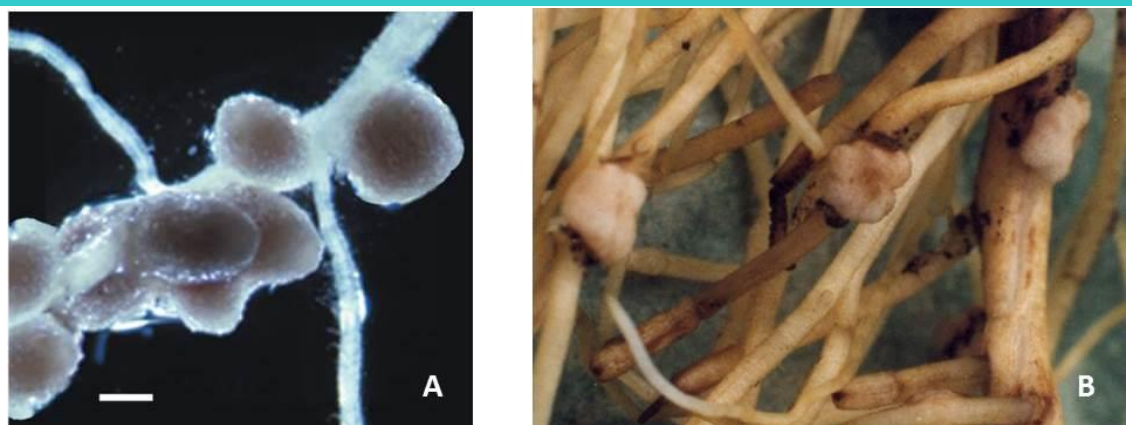


Figura 51: Exemplos de nódulos em raízes de leguminosas. **(A)** nódulos em raízes de ervilha (*Pisum sativum* L.) e **(B)** nódulos em raízes de faveira (*Vicia faba* L.) (A) retirado de Jones *et al.* (2013), figura 12.27C, pag 430; (B) fotografia da autora

A formação de nódulos e o estabelecer da simbiose fixadora de azoto requer que a planta hospedeira e os rizóbios se reconheçam mutuamente. Isto é levado a cabo pela secreção, por parte da planta, de compostos flavonóides para a rizosfera. Cada espécie de rizóbio reconhece flavonóides específicos e este reconhecimento está na base da especificidade da simbiose. Uma vez que a bactéria tenha sido

atraída para a raiz, ocorre a indução da expressão dos seus **genes específicos de nodulação (genes *nod*)** levando à síntese de lipo-quito-sacáridos chamados **factores Nod** (Jones *et al.*, 2013).

Quando um rizóbio compatível adjacente a uma raiz da planta secreta os seus factores Nod o processo de formação do nódulo inicia-se (figura 52). Uma resposta rápida característica da presença dos factores Nod é um aumento rápido e transitório da concentração nuclear de cálcio nas células dos pêlos radiculares (pico de cálcio, em inglês “calcium spiking”). Os rizóbios prendem-se aos pêlos radiculares, e estes

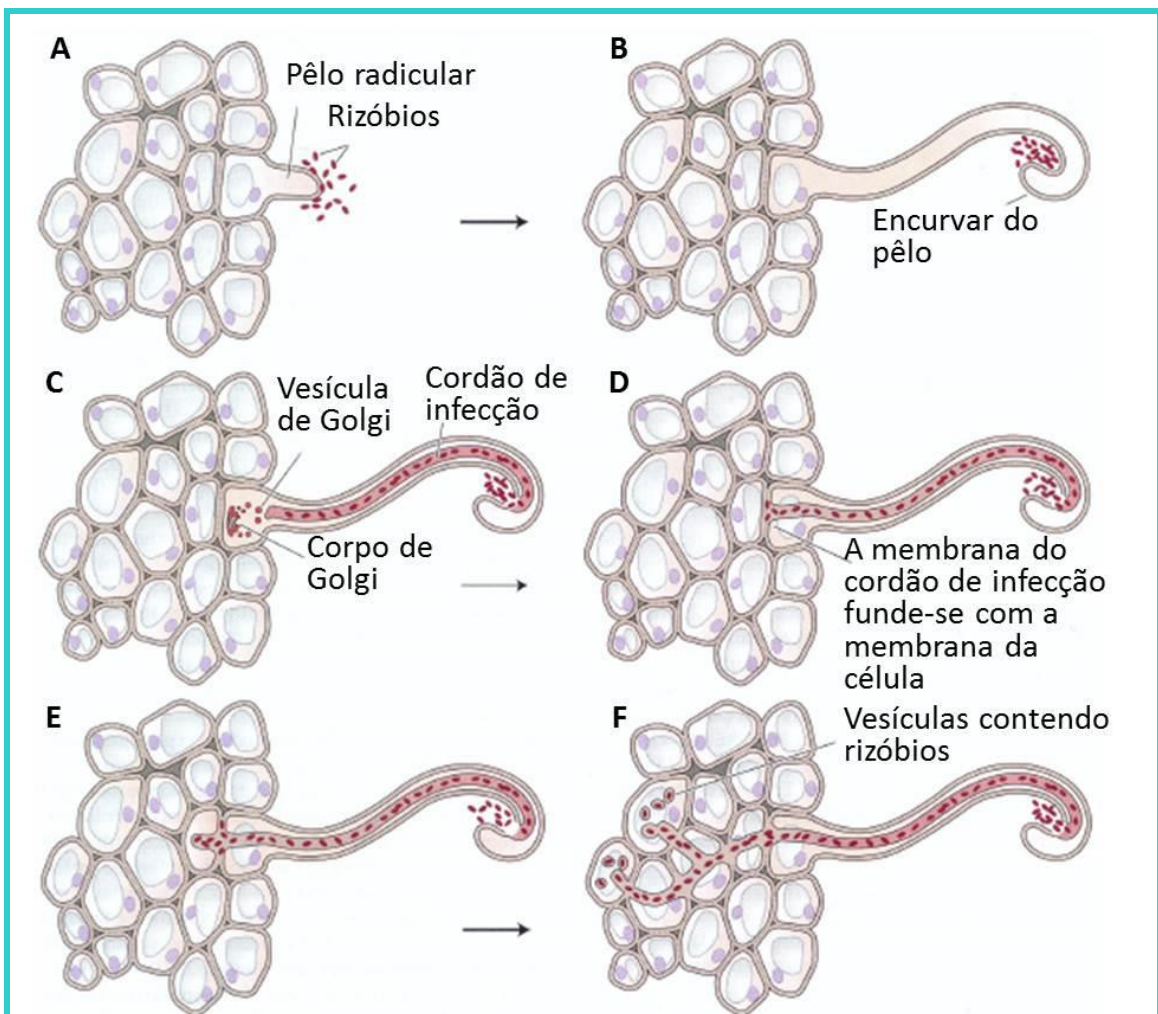


Figura 52: Processo de infecção durante a organogênese do nódulo. (A) Os rizóbios ligam-se a um pêlo radicular em resposta aos flavonóides secretados pelas raízes. (B) Em resposta aos factores Nod produzidos pelas bactérias, o pêlo radicular encurva-se e as bactérias multiplicam-se nesse espaço. (C) A degradação localizada da parede do pêlo radicular leva à infecção e formação do cordão de infecção a partir de vesículas secretórias do aparelho de Golgi. (D) O cordão de infecção atinge o fim da célula e a sua membrana funde-se com a membrana plasmática do pêlo radicular. (E) Os rizóbios são libertados no apoplasto e penetram na lamela média da célula subepidérmica, levando à formação de um novo cordão de infecção que forma um canal aberto com o primeiro. (F) O cordão de infecção estende-se e ramifica-se até atingir as células alvo, onde são libertadas vesículas contendo rizóbios.

Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 12.12, página 356

iniciam a sua deformação dentro de 6-8 horas. Os rizóbios entram na raiz da planta hospedeira pelo pêlo radicular ou por fendas na epiderme da raiz. A infecção de pêlos radiculares, que é mais frequente, leva à formação de cordões de infecção. As células do córtex da raiz e do periciclo dividem-se para formar um primórdio do nódulo e o cordão de infecção injecta rizóbios modificados (bacteróides) nas células do nódulo em formação. O resultado final é uma estrutura em que os bacteróides estão encerrados dentro de células modificadas da raiz, cada uma envolvida pela membrana plasmática da célula da raiz e por uma matriz extracelular. O nódulos podem ser determinados ou indeterminados (figura 53), dependendo da espécie hospedeira. As diferenças entre os dois tipos têm a ver com o local das divisões celulares iniciais; da forma geral dos nódulos maduros e da manutenção duma região meristemática. Os nódulos indeterminados têm uma forma cilíndrica e um meristema persistente, como por exemplo na luzerna (*Medicago sativa* L.), no trevo branco (*Trifolium repens* L.) e na ervilheira (*Pisum sativum* L.). Os nódulos determinados são esféricos e não apresentam meristema persistente, como por exemplo na soja (*Glycin max* L. Merrill), no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e no *Lotus japonicus* L. (Jones *et al.*, 2013).

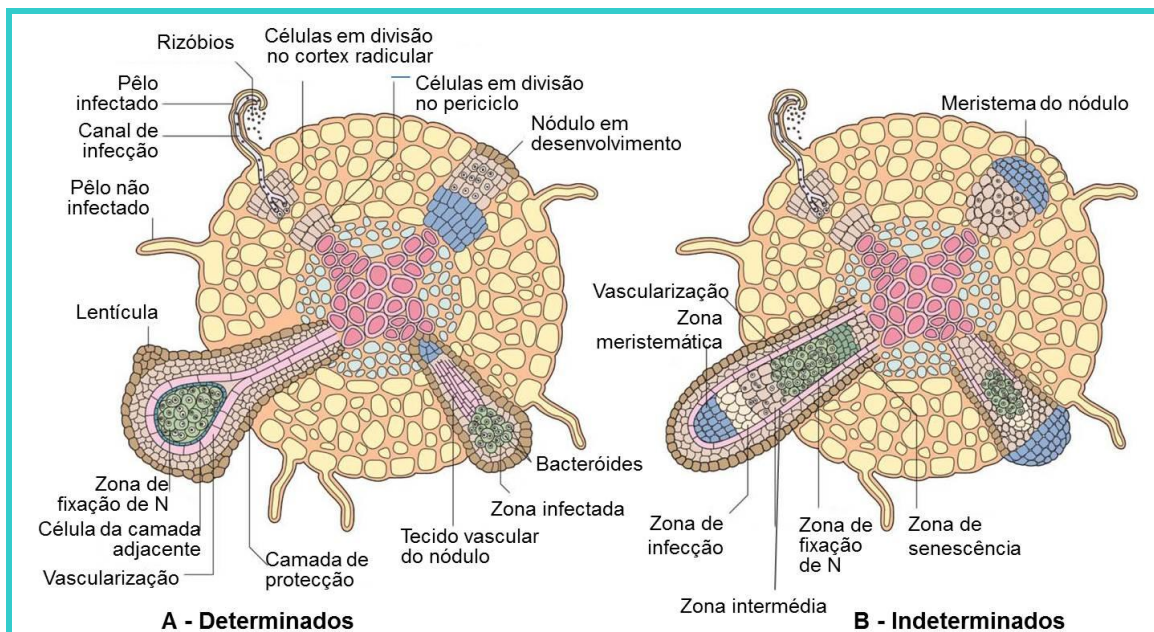


Figura 53: A infecção de pêlos radiculares ocorre pela formação de canais de infecção a partir de vesículas do aparelho de Golgi. O resultado final é uma estrutura radicular na qual rizóbios modificados estão rodeados por uma membrana e uma matriz extracelular. **(A)** Nódulos determinados como os da soja (*Glycine max* L.Merrill) e do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) não apresentam meristemas persistentes e são ligeiramente esféricos. **(B)** Nódulos indeterminados como os da Luzerna (*Medicago sativa* L.) e da ervilheira (*Pisum sativum* L.) apresentam um meristema persistente e são cilíndricas. Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 12.28, página 430.

O reconhecimento inicial dos factores Nod pelas raízes das plantas é mediado por dois receptores do tipo **RLKs** (receptor-like kinases) que estão presentes nas membranas plasmáticas das células da epiderme e que se associam num heterodímero (figura 54).

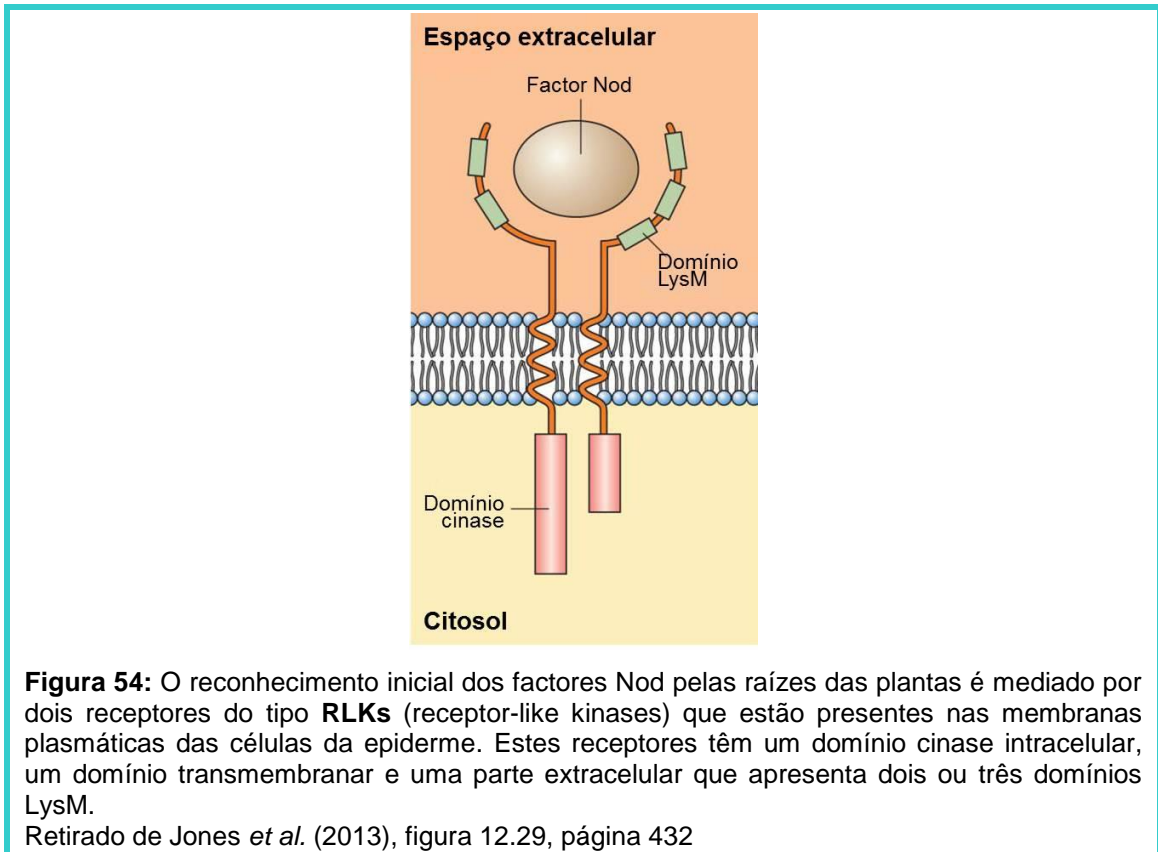
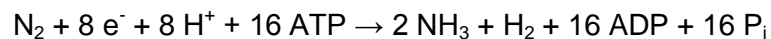


Figura 54: O reconhecimento inicial dos factores Nod pelas raízes das plantas é mediado por dois receptores do tipo **RLKs** (receptor-like kinases) que estão presentes nas membranas plasmáticas das células da epiderme. Estes receptores têm um domínio cinase intracelular, um domínio transmembranar e uma parte extracelular que apresenta dois ou três domínios LysM.

Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 12.29, página 432

2.5.2. A fixação do azoto molecular (N₂)

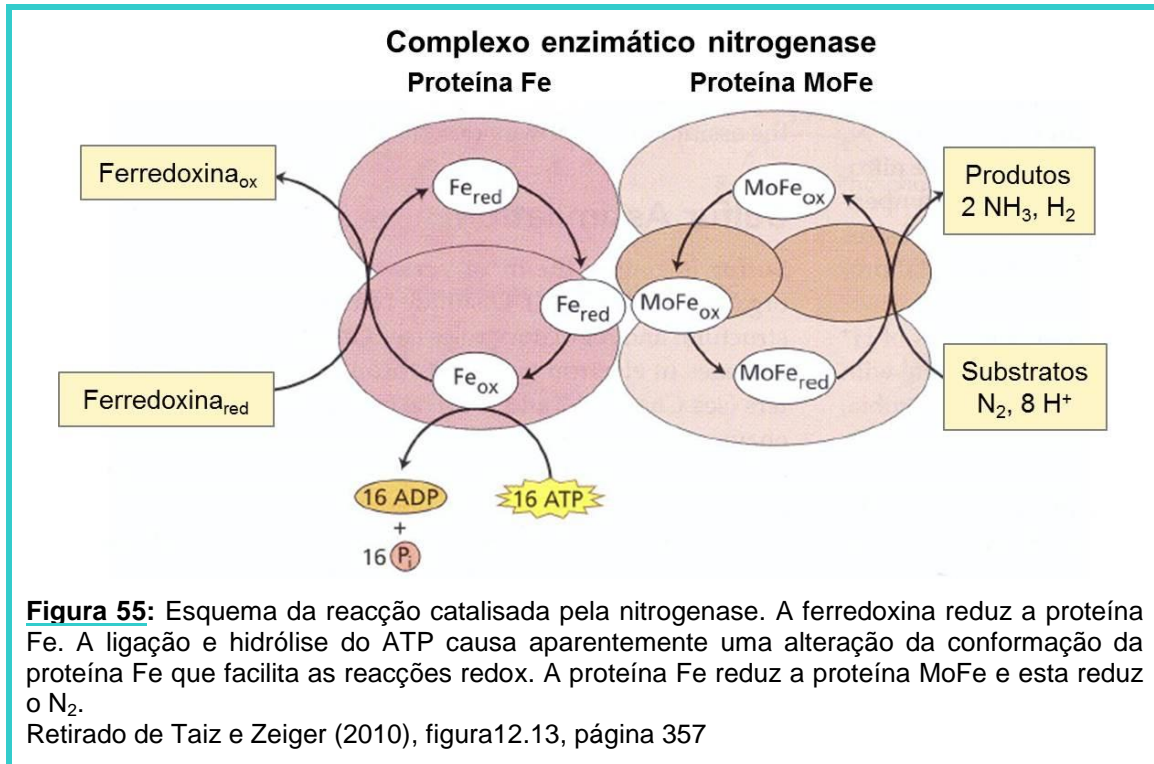
A fixação biológica de azoto, tal como a industrial, produz amónia a partir de azoto molecular. A reacção global é a seguinte (Taiz e Zeiger, 2010):



Esta reacção é catalisada pela **nitrogenase** que é um complexo enzimático. Este pode ser dividido em dois componentes: uma proteína Fe e uma proteína MoFe não podendo nenhuma delas funcionar isoladamente (figura 55). Na reacção global, a ferredoxina serve como um dador de electrões à proteína Fe que por sua vez hidrolisa ATP e reduz a proteína MoFe. Esta pode então reduzir vários substratos, embora em condições naturais reaja apenas com N₂ e H⁺ (Taiz e Zeiger, 2010).

A energética da fixação do azoto é muito complexa. A produção de NH₃ a partir de N₂ e H⁺ é uma reacção exergónica, isto é, liberta energia. No entanto, na indústria é endergónica, exigindo um grande fornecimento de energia para quebrar a

tripla ligação do N_2 . Pela mesma razão, a redução enzimática pela nitrogenase exige um grande investimento em energia. Cálculos baseados no metabolismo de carboidratos de leguminosas mostram que estas plantas consomem 12 g de carbono orgânico por grama de N_2 fixo (Taiz e Zeiger, 2010).



Como a reacção de fixação do N_2 é altamente exergónica, a produção de amónia fica limitada pela lentidão da acção da nitrogenase. O número de moléculas de N_2 reduzidas por unidade de tempo é de apenas 5 s^{-1} . Para compensar, os bacteróides sintetizam grandes quantidades de nitrogenase, cerca de 20% da proteína total da célula (Taiz e Zeiger, 2010).

Em condições naturais, grandes quantidades de H^+ são reduzidos a gás H_2 num processo que compete com a redução do N_2 pela obtenção de electrões da nitrogenase. Nos rizóbios, cerca de 30 a 60% da energia fornecida à nitrogenase pode ser perdida como H_2 , diminuindo a eficiência da fixação de N_2 . No entanto, alguns rizóbios contêm hidrogenase que é uma enzima que quebra o H_2 libertando electrões para a redução do N_2 , melhorando, assim, a eficiência da fixação do azoto (Taiz e Zeiger, 2010).

2.5.3. A manutenção de condições de anaerobiose

A fixação de azoto envolve o consumo de grandes quantidades de energia, por isso a nitrogenase tem locais que facilitam as trocas de electrões de alta energia. Como o oxigénio é um forte aceitador de electrões pode danificar estes locais e inactivar a nitrogenase irreversivelmente. Para evitar isto é necessário que o N₂ seja fixo em condições de anaerobiose (Taiz e Zeiger, 2010).

As leguminosas e as plantas actinorrízicas regulam a permeabilidade aos gases dos seus nódulos de forma a manterem no nódulo um teor em oxigénio que permita suportar a respiração, mas que seja também suficientemente baixo para evitar a inactivação da nitrogenase.

Os nódulos têm uma proteína heme chamada **leghemoglobina** que está presente em elevadas concentrações no citoplasma das células do nódulo infectadas e que dão aos nódulos uma tonalidade cor-de-rosa. Foi encontrada uma concentração de 700 µM de leghemoglobina em nódulos de soja (*Glycine max* L. Merrill). A planta produz a parte globina da leghemoglobina em resposta à infecção pela bactéria. Esta produz a parte heme. A leghemoglobina tem uma elevada afinidade para o oxigénio (Taiz e Zeiger, 2010).

Pensava-se que a leghemoglobina funcionava como um tampão para o oxigénio do nódulo, mas estudos recentes mostraram que apenas armazena oxigénio suficiente para suportar a respiração do nódulo durante alguns segundos. A sua função é de ajudar a levar oxigénio para as células das bactérias simbióticas, da mesma forma que a hemoglobina transporta oxigénio para os tecidos animais. Para realizar a respiração aeróbica nestas condições os bacteróides utilizam uma cadeia de transporte electrónico especializada em que a oxidase terminal tem uma afinidade para o oxigénio ainda maior que a da leghemoglobina (Taiz e Zeiger, 2010).

2.5.4. Outras formas de simbiose para a fixação do azoto

Existem outras formas de simbioses fixadoras de azoto molecular para além das simbioses formadoras de nódulos como ocorrem na família Fabaceae com os rizóbios, ou nas plantas actinorrízicas com bactérias do género *Frankia*. É o caso das simbioses que envolvem as plantas em C₄ como a cana de açúcar (*Saccharum* sp.) e o género *Miscanthus*. Também o pequeno feto aquático *Azolla* e plantas do género *Gunnera* estabelecem simbioses com as cianobactérias *Anabaena* e *Nostoc*, respectivamente, embora este último género de cianobactérias possa ter vida livre (figura 56).

Nostoc

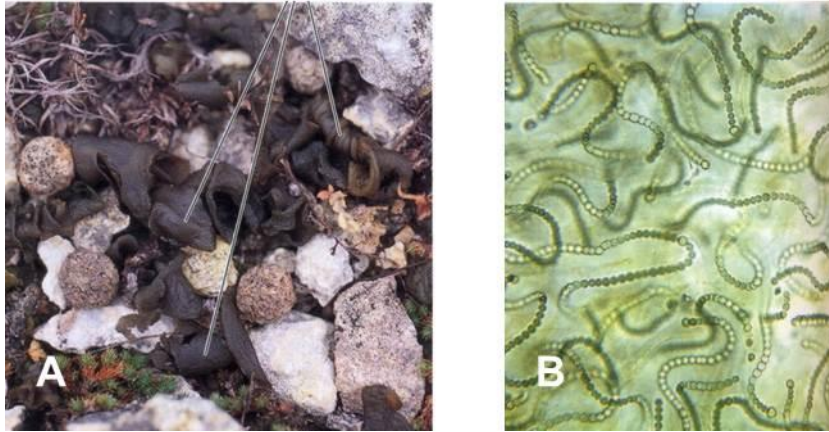


Figura 56: Colônias de cianobactérias do gênero *Nostoc*. A colônia incha e fixa azoto quando está humidificada (A), mas fica dormente e quebradiça quando seca. Mesmo estando extremamente dessecadas, com um potencial hídrico extraordinariamente baixo, as células estão vivas e podem iniciar o seu metabolismo normal em segundos. As células mais largas são heterocistos responsáveis pela fixação do N_2 .

Retirado de Mauseth (2009), figura 13.14 A e C, página 394

Nas cianobactérias, as condições anaeróbicas são criadas em células especializadas chamadas **heterocistos** (figura 57). Estas células têm paredes espessadas que se diferenciam quando as cianobactérias filamentosas são privadas de NH_4^+ . Estas células não possuem fotossistema II, que é o fotossistema que nos cloroplastos produz oxigênio. Uma fonte importante de azoto nos arrozais, em condições de encharcamento, é o feto aquático *Azolla* que se associa com a cianobactéria *Anabaena* (figura 58). A associação *Azolla-Anabaena* pode fixar até 0,5 kg de azoto atmosférico por hectare, por dia, o que constitui uma taxa de fertilização azotada que permite uma colheita moderada de arroz (Taiz e Zeiger, 2010).

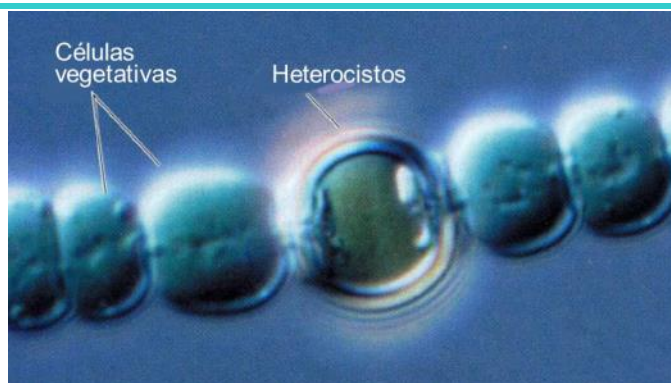


Figura 57: Um heterocisto da cianobactéria filamentosa fixadora de azoto *Anabaena*. Os heterocistos de paredes espessadas estão colocados entre as células vegetativas e têm um ambiente interno que lhes permite fixar azoto em condições de anaerobiose.

Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 12.10, página 353



Figura 58: (A) Na simbiose entre os fetos aquáticos do género *Azolla* e as cianobactérias fixadoras de azoto *Anabaena azollae*, as bactérias não estão presentes em nódulos das raízes mas sim em cavidades das folhas. Na figura, a zona mais escura da folha representa a área que contém a cianobactéria. (B) Exemplo do sistema agrícola arroz – *Azolla* – patos utilizado em arrozais. A simbiose *Azolla* – *Anabaena* fornece o azoto às plantas de arroz, os patos comem os fetos e as suas fezes são ricas noutros nutrientes necessários ao arroz. Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 12.32, página 434

2.5.5. A translocação do azoto fixo pelos simbios

Devido à sua toxicidade, a amónia libertada pelos procariotas simbios tem de ser rapidamente convertida em formas orgânicas nos nódulos da raízes antes de ser transportada para a parte aérea pelo xilema. As leguminosas fixadoras de azoto podem ser classificadas ou como exportadoras de amidas ou como exportadoras de ureídeos dependendo do clima da zona em que são cultivadas (Taiz e Zeiger, 2010).

As amidas, principalmente as derivadas dos aminoácidos asparagina ou glutamina, são exportadas dos nódulos em leguminosas de climas temperados, como a ervilha (*Pisum sativum* L.), o trevo (*Trifolium* sp.), a faveira (*Vicia faba* L.) e as lentilhas (*Lens culinaris* Medikus). Os ureídeos são exportados dos nódulos de leguminosas originárias de climas tropicais como a soja (*Glycine max* L. Merrill), o feijão comum (*Phaseolus* sp.), o amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e certos feijões do género *Vigna*. Os ureídeos principais são a alantoína, o ácido alantóico e a citrulina (figura 59). A alantoína é sintetizada nos peroxisomas a partir de ácido úrico, e o ácido alantóico é sintetizado a partir da alantoína no retículo endoplásmico. O local de síntese da citrulina a partir do aminoácido ornitina não é ainda conhecido. Estes três compostos são translocados no xilema para a parte aérea onde são rapidamente catabolizados para amónio e este entra na via de assimilação descrita anteriormente (Taiz e Zeiger, 2010).

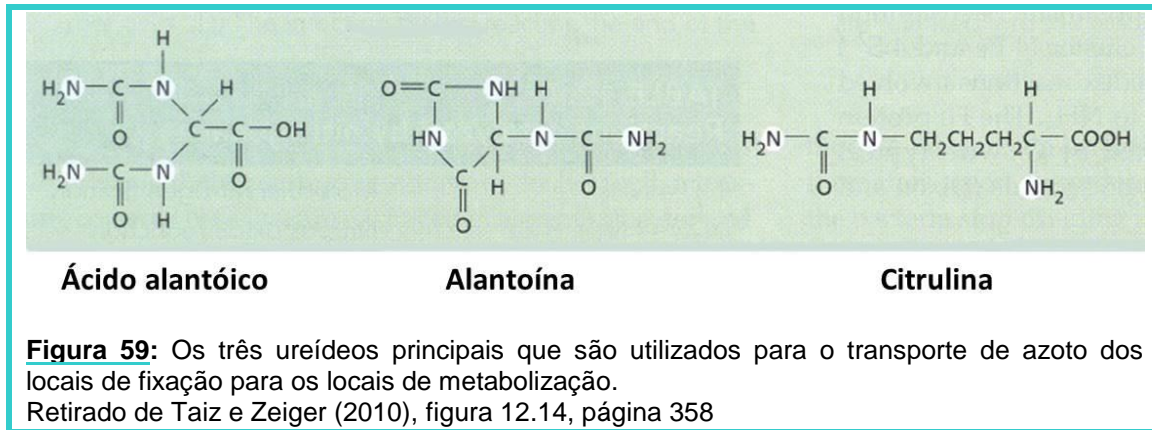


Figura 59: Os três ureídeos principais que são utilizados para o transporte de azoto dos locais de fixação para os locais de metabolização. Retirado de Taiz e Zeiger (2010), figura 12.14, página 358

3. O ENXOFRE

O enxofre elementar ocorre normalmente em áreas de actividade vulcânica ou nos locais em que minerais de sulfato foram reduzidos por bactérias anaeróbicas. A forma inorgânica reduzida do enxofre é o gás sulfureto de hidrogénio (ácido sulfídrico – H₂S) e o anião sulfureto (S²⁻). As formas oxidadas do enxofre inorgânico são o dióxido de enxofre (SO₂) e os aniões sulfito (SO₃²⁻) e sulfato (SO₄²⁻). Outras formas inorgânicas de enxofre são os metabissulfitos (S₂O₅²⁻), os tiosulfatos (S₂O₃²⁻), ditionitos (S₂O₄²⁻), ditionatos (S₂O₆²⁻) e ainda tiocianatos (SCN⁻) (Jones *et al.*, 2013).

O enxofre orgânico apresenta-se de diversas formas relacionadas com a sua função. O enxofre ocorre em aminoácidos e proteínas, coenzimas e vitaminas como a coenzima A, a S-adenosilmetionina, tiamina, biotina e metilmationina. Nas plantas ocorre ainda em moléculas que dão odores e sabores, por vezes atractivos e outras vezes repelentes como os dialilos do alho ou da cebola, ou ainda os glucosinolatos das brássicas e outras crucíferas (Jones *et al.* 2013).

3.1. O CICLO DO ENXOFRE

O ciclo biogeoquímico do enxofre baseia-se na interconversão das formas oxidadas e reduzidas (figura 60). As plantas e microorganismos podem assimilar o enxofre reduzindo o sulfato e sintetizando compostos orgânicos contendo enxofre, como o aminoácido cisteína. A redução microbiana do sulfato (SO₄²⁻) pode ocorrer quando bactérias anaeróbicas facultativas, como *Pseudomonas* e *Salmonella* usam o sulfato como aceitador de electrões em lugar do oxigénio para o reduzir a enxofre. Este é, de seguida reduzido a sulfureto de hidrogénio (H₂S) por *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* e outros anaeróbicos. Na natureza, a redução do sulfato ocorre essencialmente por esta via (Jones *et al.*, 2013).

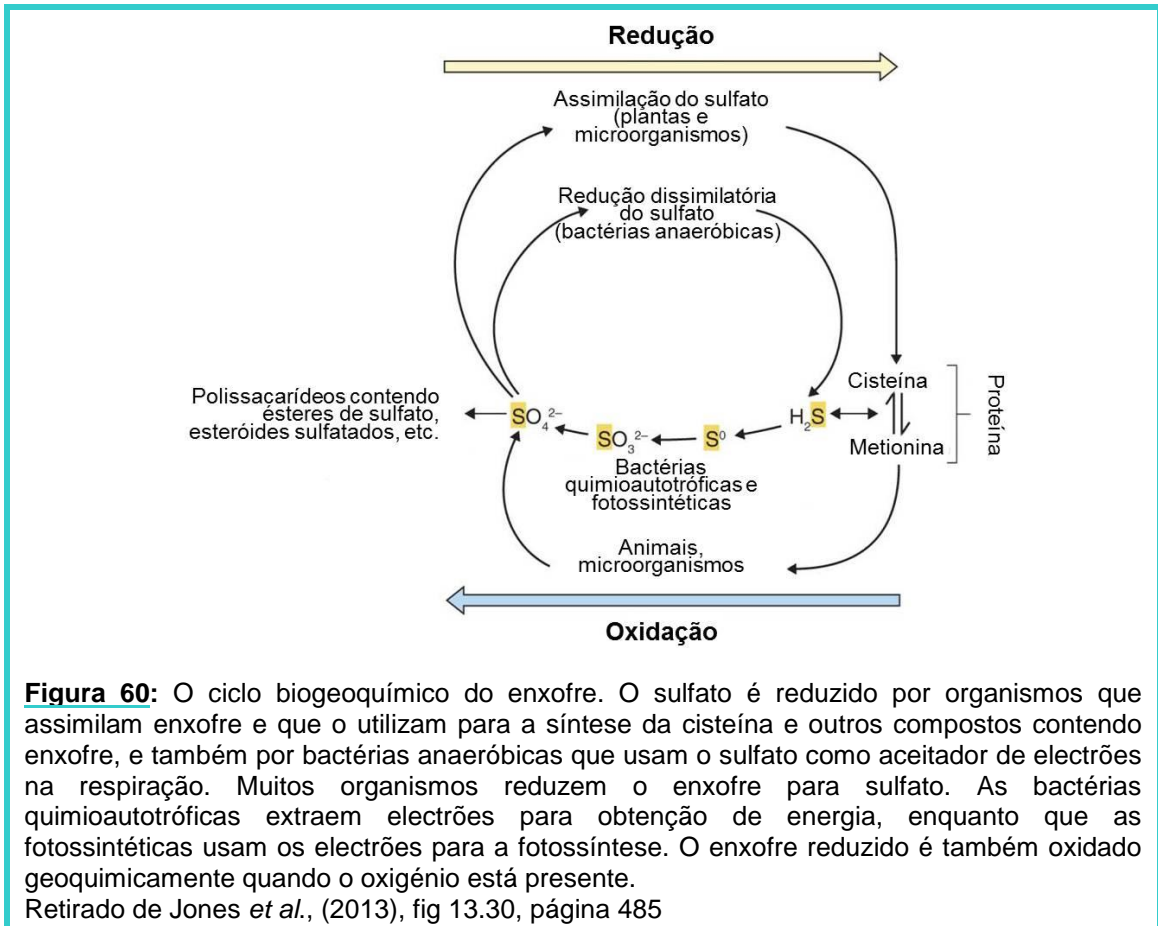


Figura 60: O ciclo biogeoquímico do enxofre. O sulfato é reduzido por organismos que assimilam enxofre e que o utilizam para a síntese da cisteína e outros compostos contendo enxofre, e também por bactérias anaeróbicas que usam o sulfato como aceitador de elétrons na respiração. Muitos organismos reduzem o enxofre para sulfato. As bactérias quimioautotróficas extraem elétrons para obtenção de energia, enquanto que as fotossintéticas usam os elétrons para a fotossíntese. O enxofre reduzido é também oxidado geoquimicamente quando o oxigênio está presente.

Retirado de Jones *et al.*, (2013), fig 13.30, página 485

Na fase oxidativa do ciclo do enxofre, o sulfato (SO_4^{2-}) é regenerado a partir de enxofre elementar e sulfureto de hidrogênio (H_2S). A oxidação biológica do enxofre reduzido para sulfato é levada a cabo por organismos que incluem as bactérias quimioautotróficas que extraem elétrons para energia e as bactérias fototróficas que usam os elétrons para a fotossíntese. Organismos aeróbicos (ex. *Thiobacillus*) e anaeróbicos (ex. *Chlorobium*) oxidam o sulfureto a enxofre e posteriormente oxidam-no ainda mais para sulfato. A pH neutro o sulfureto sofre uma oxidação geoquímica espontânea para o gás dióxido de enxofre (SO_2). Outra fonte importante de SO_2 na atmosfera é a combustão de combustíveis fósseis. As folhas são capazes de absorver e assimilar o SO_2 e isto pode ser uma fonte importante de enxofre para o crescimento das plantas em áreas com elevados níveis de poluição aérea. Duma forma geral, o SO_2 volta ao ciclo biológico na água e no solo como SO_3^{2-} (Jones *et al.*, 2013).

3.2. A ASSIMILAÇÃO DO SULFATO

As plantas adquirem o enxofre essencialmente pela absorção do sulfato pelas raízes. Embora o enxofre não seja normalmente limitante para o crescimento das plantas, a sua absorção e assimilação são estreitamente reguladas de forma a manter-se a coordenação entre o fornecimento de sulfato, a assimilação do azoto e as necessidades para o crescimento. Tal como acontece com outros macronutrientes aniónicos, o sulfato é activamente acumulado pelas células das raízes. Embora ocorra alguma redução e assimilação do sulfato nos plastos das raízes, a maior parte do processamento do enxofre ocorre na parte aérea onde os cloroplastos das células das folhas são locais de assimilação, conduzida pela luz, do SO_4^{2-} a cisteína, glutatona e outros metabolitos (figura 61). Os plastos são supostos conter a totalidade dos passos existentes na via biossintética desde o sulfato inorgânico à formação da cisteína. Como acontece com outros iões minerais, o sulfato é transportado para a parte aérea pelo xilema. Nas folhas entra para as células do mesófilo e é transportado através do envelope cloroplastidial. Quer nas folhas quer nas raízes algum sulfato é transportado através do tonoplasto e é armazenado no vacúolo (Jones *et al.*, 2013).

A energia necessária para a absorção de sulfato pela membrana plasmática contra um gradiente electroquímico é fornecida por um gradiente de potencial electroquímico gerado por uma H^+ -ATPase. O sulfato é transportado para o citosol por simporte electrogénico que movimenta 3 H^+ por cada SO_4^{2-} . Sulfitos, selenatos, molibdatos, e cromatos inibem a absorção de sulfatos por competição com o sulfato no local de ligação com o transportador. Ao contrário do que acontece na membrana plasmática, o gradiente electroquímico do tonoplasto favorece a difusão do sulfato para o vacúolo o que acontece através dum canal específico para o sulfato.

A forma de gráfico que representa a absorção do sulfato pelas raízes contra um gradiente de concentração mostra que esta é multifásica (figura 62), o que sugere a presença de vários transportadores com diferentes afinidades para o sulfato. Esta hipótese é suportada por estudos genómicos (Jones *et al.*, 2013).

3.2.1. A redução do sulfato

A assimilação do sulfato envolve a sua redução a sulfureto e depois a incorporação do sulfureto a cisteína. A redução do sulfato exige um ATP, oito electrões e oito prótons e produz AMP e pirofosfato inorgânico (PPi). Como exige

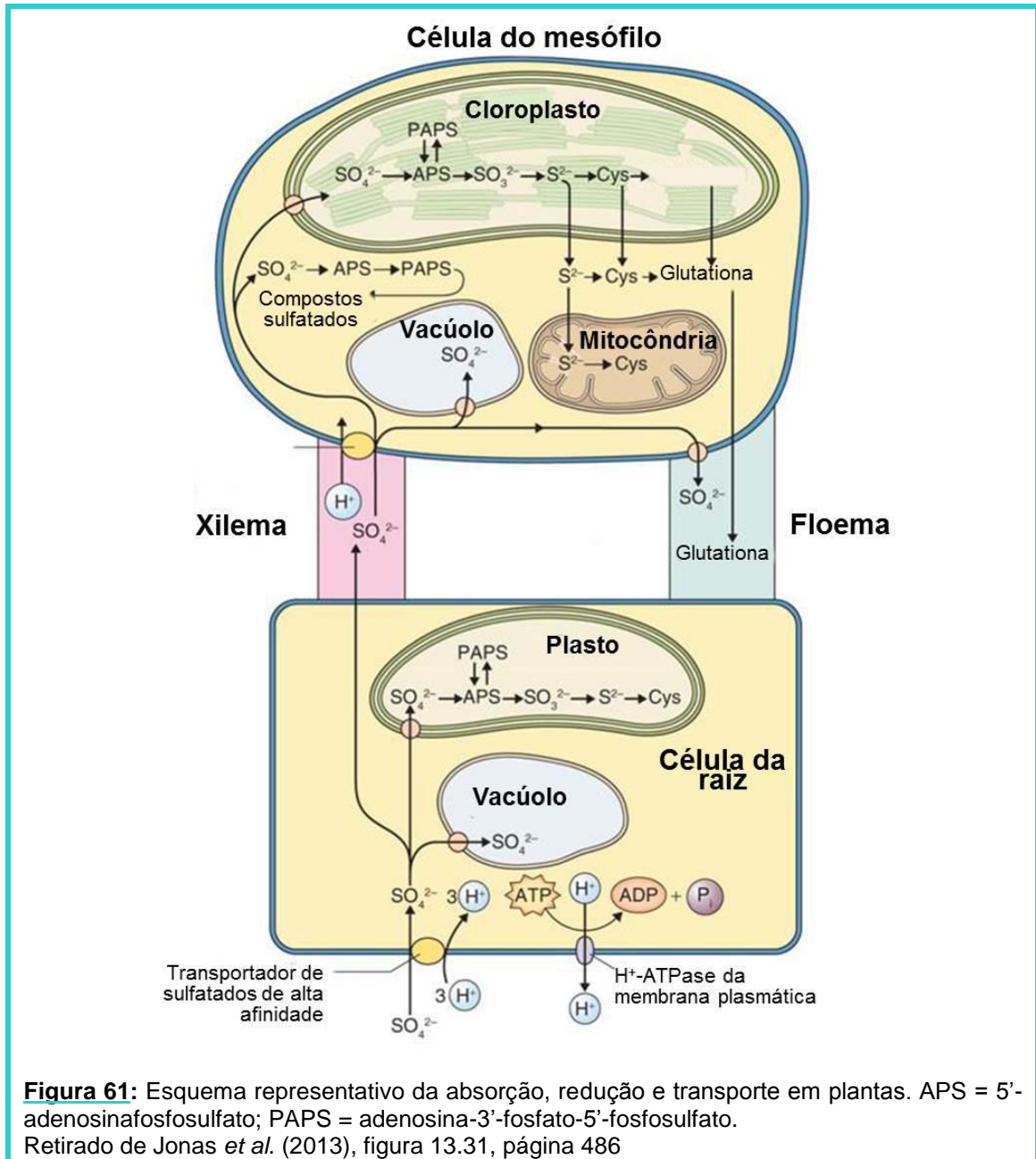
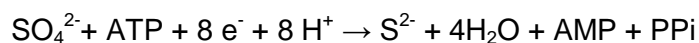


Figura 61: Esquema representativo da absorção, redução e transporte em plantas. APS = 5'-adenosinafosfosulfato; PAPS = adenosina-3'-fosfato-5'-fosfosulfato. Retirado de Jonas *et al.* (2013), figura 13.31, página 486

732 kJ mol^{-1} , este processo é mais exigente em energia que a assimilação quer do nitrato quer do carbono (respectivamente 347 e 478 kJmol^{-1}). A energia necessária à redução do sulfato nos cloroplastos é facilmente satisfeita pelo ATP e poder redutor resultantes da fotossíntese. Nos plastos não fotossintéticos da raiz a energia necessária à assimilação do sulfato provém da respiração e da actividade da via das pentose fosfato.

A reacção da redução do sulfato a sulfito é a seguinte:



O primeiro passo na redução do sulfato é uma activação durante a qual o sulfato reage com ATP para formar **5'-adenosina fosfosulfato (APS)**, reacção que

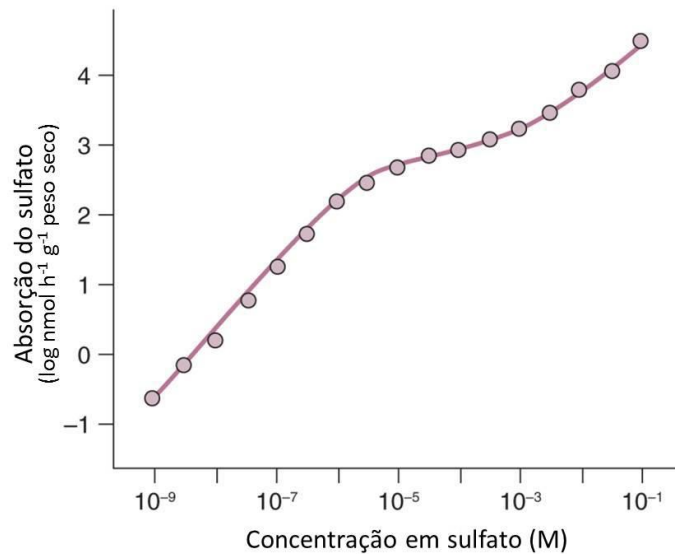


Figura 62: Taxa multifásica da absorção do sulfato em raízes de cevada incubadas em diferentes concentrações de sulfato. Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 13.32, página 486

é catalizada pela enzima **ATP sulfurilase**. Esta reacção é reversível e o sentido da formação de ATP é favorecido, mas a remoção do APS pela **APS redutase** e do PPI pela **pirofosfatase**, conduz a reacção no sentido da síntese da APS. A ATPsulfurilase das folhas existe em duas isoformas com constantes cinéticas semelhantes. A forma principal está nos cloroplastos (90%) e a outra forma está no citosol. A enzima liga-se a MgATP e ao sulfato sequencialmente. Os iões molibdato e selenato competem com o sulfato pelo local de ligação (Jones *et al.*, 2013).

A APS (figura 63) é um composto de elevada energia devido à ligação ácido fosfórico – ácido sulfúrico que potencia o grupo sulfuril para futuras reacções. O APS encontra-se num ponto de ramificação para duas vias: a via da **redução do sulfato** que conduz à formação da cisteína, e a via da **sulfonação** que leva à formação de compostos sulfatados, sulfonatos e derivados. Na via da sulfonação, a **APScinase** fosforila a APS para produzir **adenosina-3'-fosfato-5'-fosfosulfato (PAPS)**, que é o substrato para sulfotransferases, isto é, uma família de várias proteínas responsáveis por transferirem um grupo sulfato para uma grande gama de compostos tais como coumarinas, glucosinolatos, flavonóides, ácidos fenólicos, esteróides e ésteres de sulfato (Jones *et al.*, 2013).

3.2.2. A redução do APS a cisteína

A redução do APS a cisteína envolve várias reacções. Primeiro o APS é reduzido a sulfito (SO_3^{2-}) e depois o sulfito é reduzido a sulfureto (S^{2-}). Finalmente o sulfureto reage com *O*-acetilserina para formar o grupo tiol da cisteína. A redução do

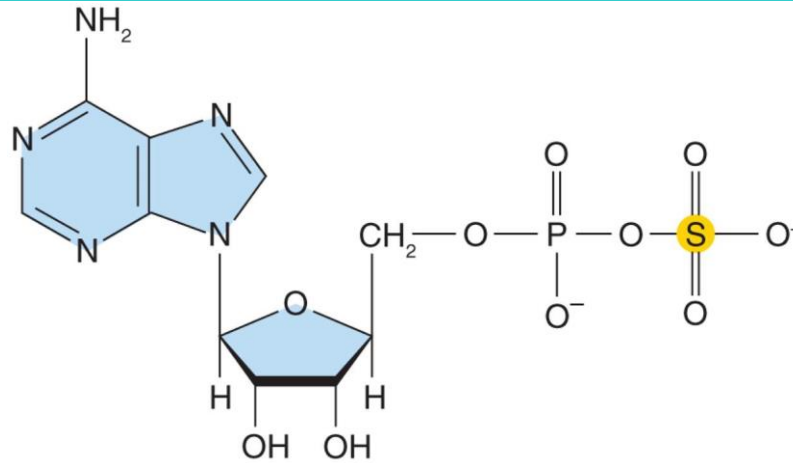
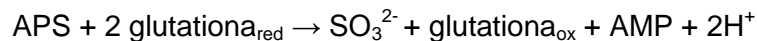


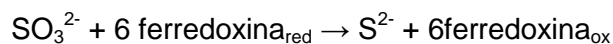
Figura 63: 5'-adenosina fosfosulfato (APS, também conhecida como 5'-adenilsulfato)
Retirado de Jones *et al.*, figura13.34, página 487

APS para formar sulfito é catalizada por uma APS redutase dependente de tiol que existe unicamente em plantas. Esta enzima está localizada nos plastos e cataliza a reacção entre APS e a glutaciona reduzida para produzir sulfito, AMP e glutaciona oxidada:



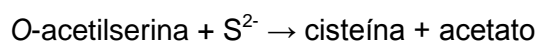
A glutaciona é tripéptido contendo resíduos de glutamato, cisteína e glicina. É um dos compostos pertencentes a uma família que medeia uma grande gama de reacções in vivo, passando de uma forma a outra, entre ditiol (forma reduzida, $-\text{SH HS}-$) e disulfito (forma oxidada, $-\text{S}-\text{S}-$). Na figura 63 podemos ver que a glutaciona_{red} é regenerada da glutaciona_{ox} pela **NADPH glutaciona redutase** (Jones *et al.*, 2013).

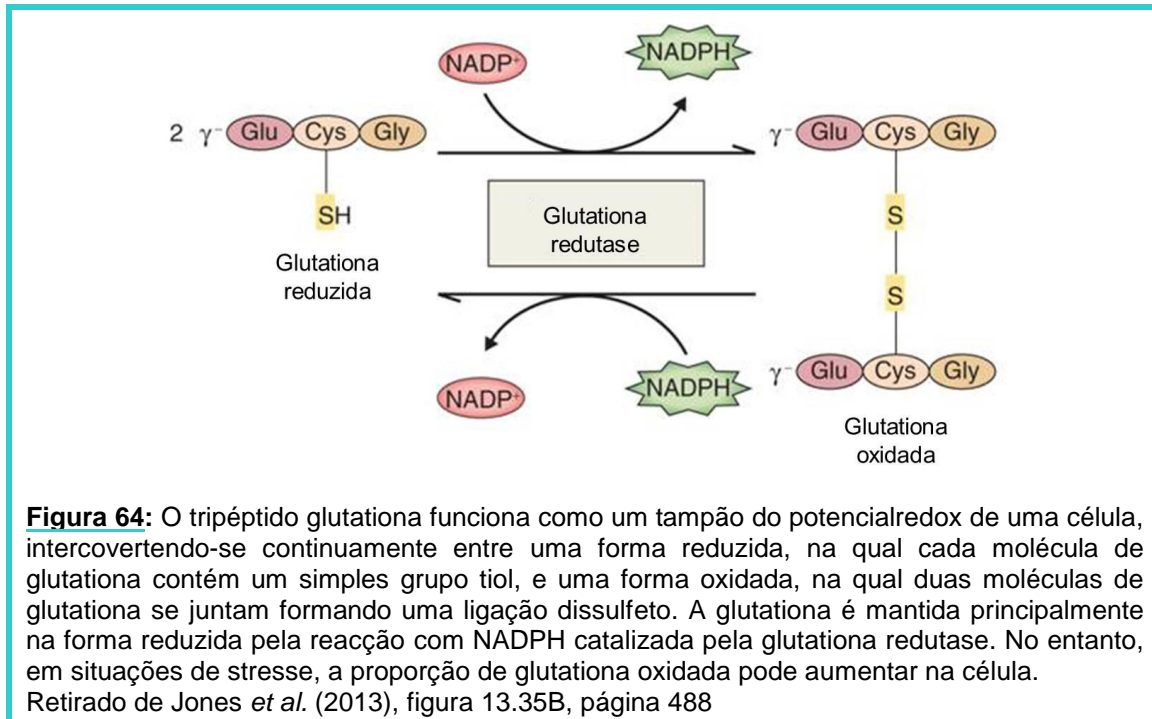
A próxima etapa é a redução do sulfito a sulfureto pela **sulfito redutase (SiR)**, uma enzima localizada nos plastos e que usa a ferredoxina para fornecer os seis electrões necessários para reduzir o sulfito (SO_3^{2-}):



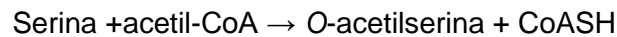
Nos tecidos verdes a ferredoxina é reduzida directamente pelo transporte de electrões não-cíclico por via da fd-redutase. Nas raízes a ferredoxina é reduzida indirectamente pelo NADPH proveniente da via das pentoses fosfato. As plantas mantêm a actividade de SiR a níveis superiores aos da APS redutase para se protegerem contra uma acumulação de sulfito a níveis tóxicos.

A última etapa da assimilação reductiva do sulfato é a condensação de **O-acetilserina (OAS)** e **sulfureto** para **cisteína**, reacção catalizada pela **O-acetilserina(tiol)liase (OASTL)**:





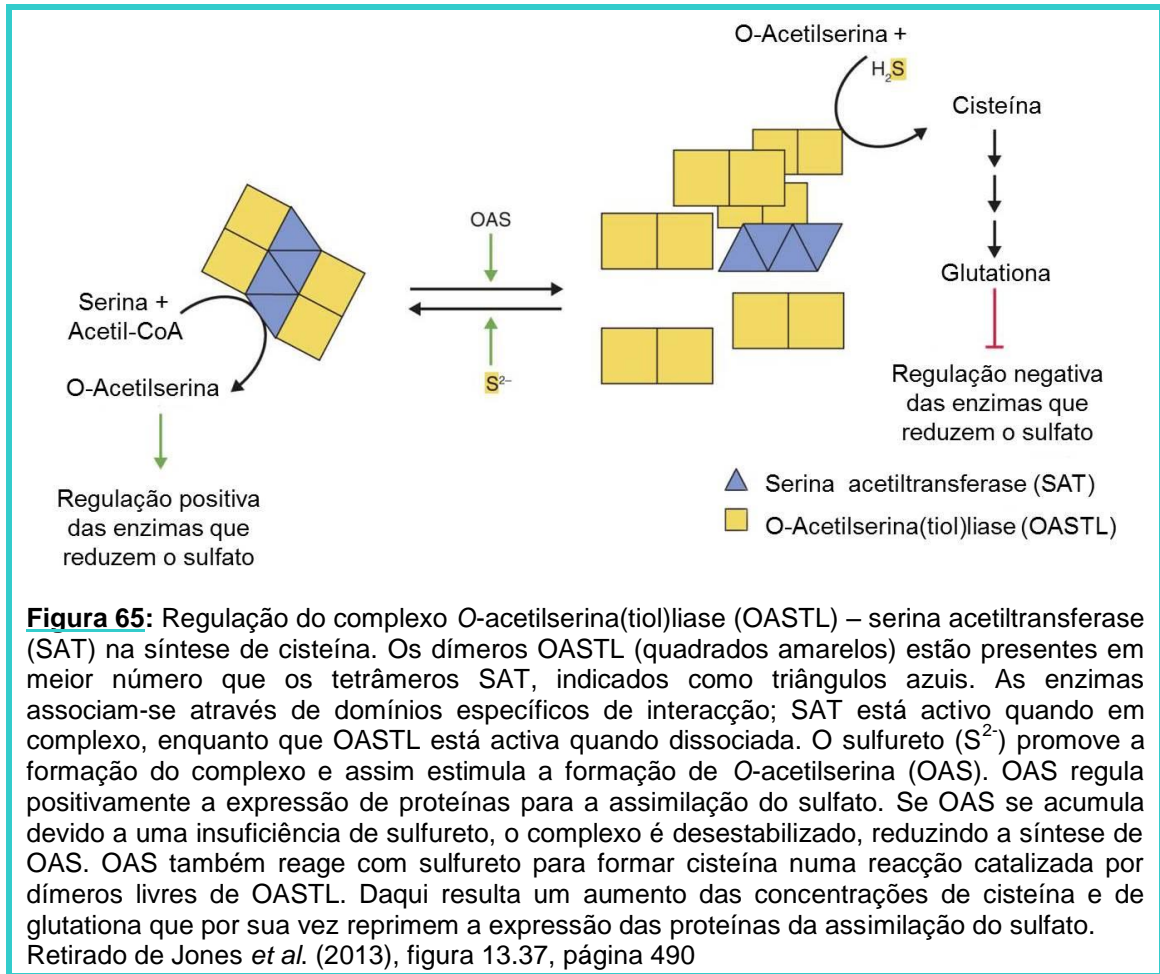
A síntese de OAS a partir de serina e acetil-CoA é catalizada pela **serina acetiltransferase (SAT)**:



Dois dímeros de OASTL e um homotetramero de SAT formam um complexo dissociável reversivelmente (figura 65). In vivo apenas uma pequena fração do OASTL total se associa a SAT desta forma, mas o complexo tem um papel muito importante como sensor dos níveis de enxofre na planta. Quer SAT quer OASTL existem em formas diferentes no citosol, nas mitocôndrias e nos cloroplastos (Jones *et al.*, 2013).

Tal como a glutatona a cisteína interconverte-se entre ditiol ↔ dissulfeto e como tal é muito importante nas reações redox das células. Desempenha também um papel muito importante na estrutura das proteínas, quando dois resíduos de cisteína estabelecem uma ponte dissulfeto covalente, causando o dobrar da cadeia polipeptídica. A cisteína é precursor para a maioria dos compostos celulares que contêm enxofre, incluindo metionina, glutatona, coenzimas, lípidos e muitos produtos naturais. Uma dieta contendo os aminoácidos cisteína e metionina, que são os dois aminoácidos contendo enxofre, é essencial para os animais incluindo os seres humanos, por serem incapazes de reduzir o enxofre.

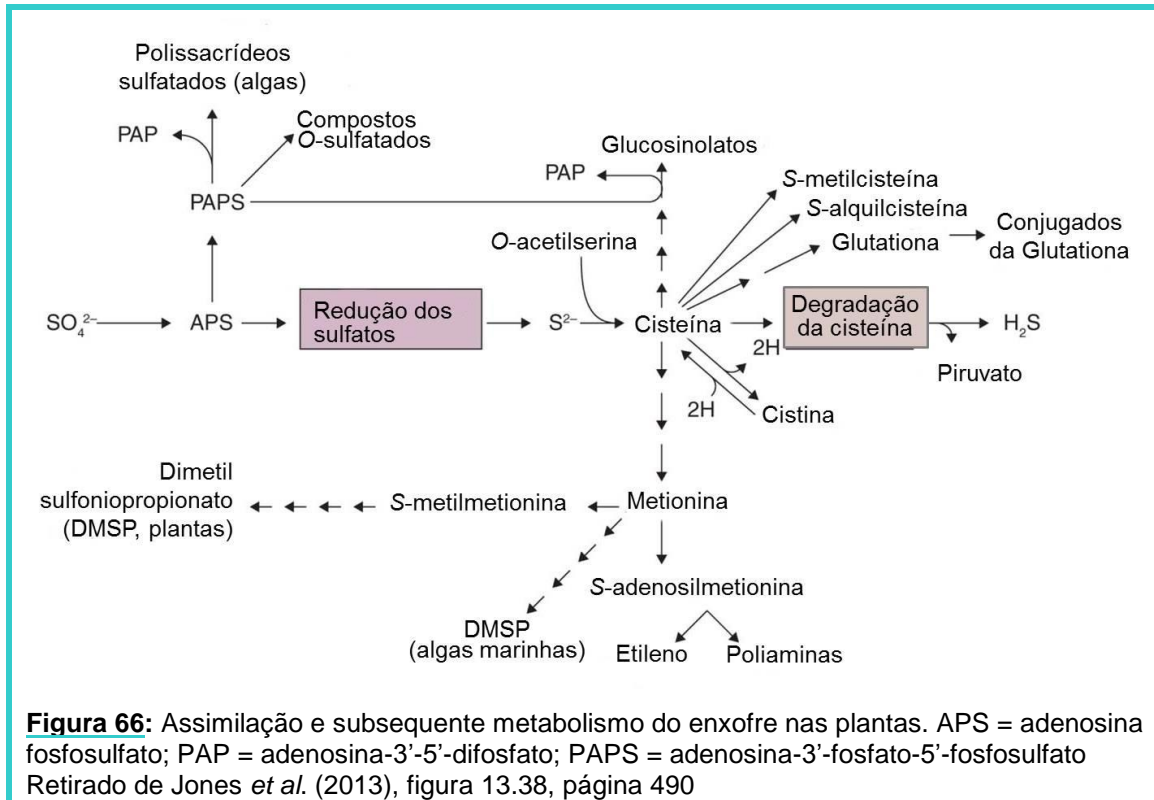
As plantas de interesse agrícola, particularmente as leguminosas, são deficientes em metionina, o que aumenta o interesse de programas que tentam melhorar o fluxo de enxofre em aminoácidos (Jones *et al.*, 2013).



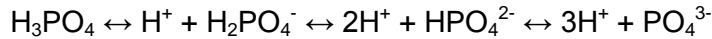
Na figura 66 apresenta-se um esquema que resume os destinos principais do enxofre uma vez assimilado pelas plantas.

4. O FÓSFORO

O fósforo elementar não existe na forma livre na crosta terrestre. Ainda que o fósforo possa reagir com outros elementos o seu estado natural é combinado com o oxigénio para formar fosfato (PO_4^{3-} , HPO_3^{2-} , $H_2PO_3^{2-}$). Existem fosfatos em depósitos minerais, no fósforo orgânico e inorgânico dos solos e das águas, assim como nos seres vivos. O fosfato (P_i) desempenha funções fundamentais na estrutura e função dos genes; na composição dos ácidos nucleicos; e na bioenergética na forma de fosfoéster e ligações difosfato de composto de elevada energia. É simultaneamente um substrato e um factor de regulação da fotossíntese e do metabolismo oxidativo; participa na transdução de sinais por via de reacções de fosforilação e desfosforilação; e na forma de fosfolípidos desempenha uma função fundamental na bioquímica das membranas (Jones *et al.*, 2013).



Fosfatos são sais de ácido fosfórico H_3PO_4 que se dissocia em várias etapas dando origem no fim a três prótons:



Na tabela 12 estão indicados os valores de pK_a ¹⁴ para os vários equilíbrios desta dissociação.

Pela tabela podemos ver a pH biológico, cerca de 6 – 8, o P_i nas células está em equilíbrio entre as formas di e monohidratadas ($pK_{a2} = 7,2$). Com exceção do sódio, potássio, amónio e lítio, a maioria dos catiões forma sais insolúveis com o fosfato. Assim, em solos com teores elevados de ferro (Fe) ou alumínio (Al), o fosfato está em grande parte indisponível para as plantas. A assimilação do fosfato nas plantas difere da assimilação redutora do nitrato e enxofre, uma vez que o fósforo permanece na sua forma oxidada, entrando nos compostos orgânicos na forma de esteres de fosfato (Jones *et al.*, 2013).

4.1. O CICLO DO FÓSFORO

Os vários estádios do ciclo do fósforo (figura 67) compreendem, a desagregação, a solubilização, sequestração, o lixiviamento e a precipitação. Ao

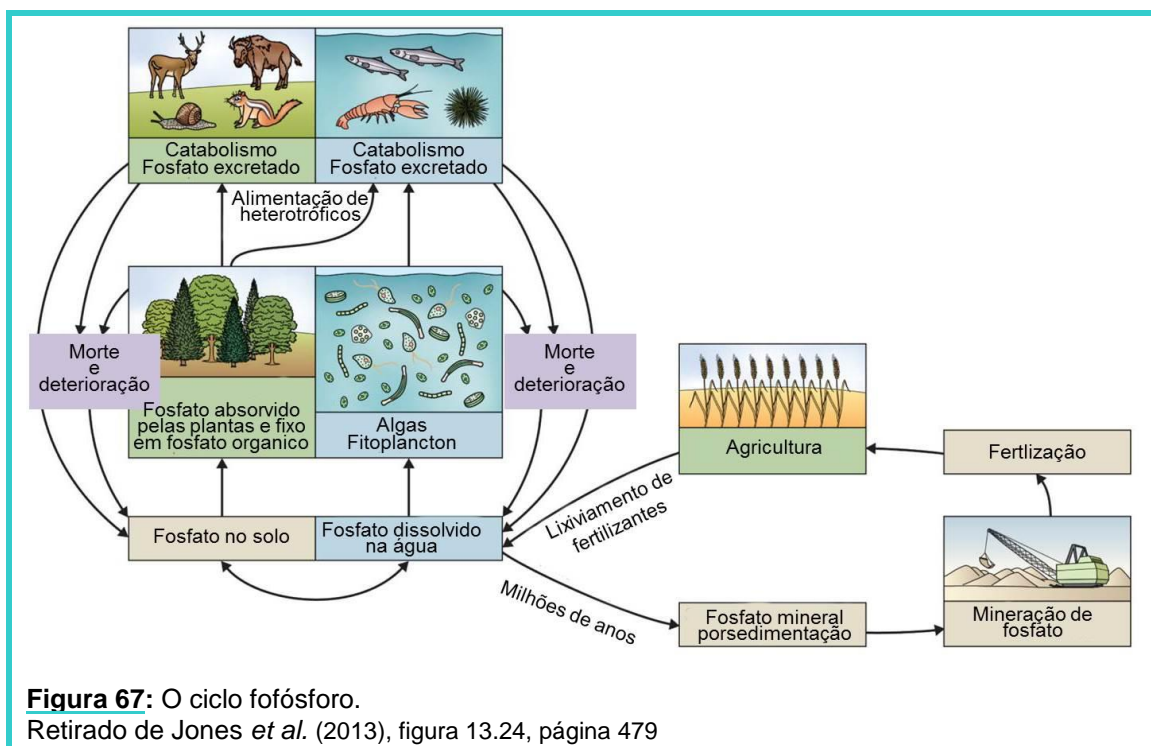
¹⁴ Para um ácido típico $HA \leftrightarrow H^+ + A^-$, e a constante de dissociação é: $K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$ e pK_a é definido como $-\log_{10}$ da constante de dissociação.

Tabela 12: Valores de pKa dos fosfatos

Retirado de Jones *et al.* (2013), tabela 13.4, página 478

Equilíbrio	Valores de pK _a
$H_3PO_4 \leftrightarrow H_2PO_4^- + H^+$	pK _{a1} = 2,15
$H_2PO_4^- \leftrightarrow HPO_4^{2-} + H^+$	pK _{a2} = 7,20
$HPO_4^{2-} \leftrightarrow PO_4^{3-} + H^+$	pK _{a3} = 12,37

contrário do azoto e do enxofre, o ciclo biogeoquímico do fósforo não apresenta uma fase gasosa, e tirando uma pequena fracção em poeiras (o fósforo aeólico) e na chuva ácida como ácido fosfórico, o fósforo atmosférico tem muito pouco significado no balanço geral deste elemento. O maior reservatório de fósforo está essencialmente nas rochas. O fósforo mineral, assim como o proveniente de fontes biológicas, como ossos e dentes tem primeiro de ser desagregado e solubilizado antes de ser absorvido pelas plantas. A fertilização química adiciona uma parte importante de fosfatos ao solo (Jones *et al.*,2013).



A absorção pelas plantas do fósforo do solo é a base duma cadeia alimentar terrestre conducente aos herbívoros e carnívoros. O fósforo é devolvido ao solo na forma de urina e fezes, assim como na decomposição de plantas e animais depois de mortos. Até cerca de 80% do fósforo do solo pode estar na forma orgânica. Em certos solos até metade do fósforo pode estar na forma relativamente pouco reactiva que é o fitato (ou fitina, mio-inositol hexafosfatos, IP6). O fluxo anual de fósforo na

biosfera terrestre é de cerca de 6×10^{10} kg. O fluxo através dos rios para os lagos e oceanos é de cerca de um terço deste valor e suporta a cadeia alimentar aquática (Jones *et al.*, 2013).

Existe uma tendência para a perda de fósforo da biosfera pela descarga dos rios para os oceanos onde precipita como fosfato de cálcio insolúvel, podendo cair para zonas abissais. Se atendermos aos fluxos actuais, pode prever-se que ocorrerá a exaustão de metade das reservas em fósforo ainda neste século. Uma pequena parte do fósforo marinho volta para a terra na forma de guano (fezes de pássaros marinhos). As ilhas da costa do Perú são consideradas como sendo a principal fonte deste de guano, estimando-se que a população de pássaros comedores de peixes destas ilhas produzam cerca de 11 000 toneladas de guano por ano (Jones *et al.*, 2013).

As plantas absorvem fósforo na forma de fosfato inorgânico (P_i). A matéria orgânica dos solos liberta P_i no processo chamado **mineralização**. A quantidade de fósforo disponível para as plantas pode ser limitado porque o fosfato é facilmente lixiviado, precipitado e adsorvido por materiais orgânicos e minerais, ou porque fica indisponível por carência hídrica, ou ainda retirado da rizosfera pelas raízes. Os coeficientes de difusão do fosfato inorgânico são muito baixos, em comparação com outros nutrientes. Para obter o fósforo do solo, as raízes modificam a sua estrutura e função, ou manipulam a química do solo, ou ainda, associam-se mutualisticamente com fungos micorrízicos (Jones *et al.*, 2013).

4.2. A ABSORÇÃO DO FÓSFORO

A concentração de fósforo inorgânico nas células das raízes existe na ordem do milimolar, enquanto no solo se encontra frequentemente na ordem do micromolar, ou mesmo menos. Para além disto, o potencial de membrana através da membrana plasmática é, como já vimos antes, muito negativo. Assim, as células da raiz têm de importar o fósforo contra um gradiente de potencial electroquímico, exigindo o gasto de pelo menos 1 mole de ATP por mole de $H_2PO_4^-$ absorvido. Foram identificados transportadores de fosfato de elevada afinidade e também de baixa afinidade (Jones *et al.*, 2013).

Quando a disponibilidade é suficiente, mais de 85% do fosfato numa planta pode estar armazenado nos vacúolos. Em condições de deficiência, a homeostasia é mantida pela mobilização do fosfato vacuolar. Até que esse reservatório fique esgotado as plantas não ajustam a sua capacidade de importar o fosfato. À medida que a carência em fósforo se acentua, a capacidade da raiz em absorver o fosfato

aumenta pela indução da expressão de transportadores de elevada afinidade. Para além disso a deficiência em fósforo induz as actividades de várias fosfatases ácidas (APases) e ribonucleases (RNases) que aceleram a recuperação de fósforo dos tecidos mais velhos e o movimento do P_i para os locais de crescimento e desenvolvimento (Jones *et al.*, 2013).

A disponibilidade em fósforo é muita vezes reduzida devido à fraca solubilidade do fosfato na presença de óxidos de metais como o ferro (Fe) e o alumínio (Al) que são comuns em solos argilosos, e também na presença de cálcio que é abundante no carbonato de cálcio ($CaCO_3$) de solos calcários. O fósforo fica igualmente indisponibilizado quando fica convertido em formas orgânicas pelos micróbios do solo. Assim, as plantas desenvolveram uma série de estratégias para obter o fósforo que necessitam a partir de reservas, normalmente indisponíveis, do solo. Como por exemplo (Jones *et al.*, 2013):

1. Vários tipos de compostos secretados pela raiz aumentam a capacidade de absorção do fósforo do solo;

2. Certas plantas do deserto são capazes de libertar água pelas raízes durante a noite aumentando assim a difusão do fosfato;

3. Secreção de ácidos carboxílicos (citrato, malato, malonato) e fosfatases (figura 68). Normalmente a secreção de carboxilatos é uma resposta à deficiência em fosfato, mas nalgumas espécies como o grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) esta libertação de carboxilatos parece ser constitutiva. No caso do tremço-branco (*Lupinus albus* L.) a perda de carbono para o solo devido à libertação de ácidos orgânicos pode chegar aos 25% do carbono total fixo. Os carboxilatos são agentes quelatizadores que ligam catiões e evitam que eles formem precipitados. Ao quelatizar catiões metálicos que poderiam ligar-se ao fosfato, os carboxilatos deslocam o fosfato da matriz do solo tornando-o disponível para as plantas. Para além disso, algum do ferro quelatizado pode deslocar-se para a superfície das raízes onde é absorvido pelos sistemas de transporte de ferro da membrana plasmática (ver página 122). Os carboxilatos são exportados por via de canais aniónicos e são frequentemente acompanhados por uma acidificação da rizosfera. A secreção de ácidos orgânicos em resposta a uma deficiência em fósforo está associada, de forma coordenada, a alterações no metabolismo da raiz. Assim, aumenta a actividade das enzimas associadas ao Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos (TCA) tais como a citrato sintase e a malato desidrogenase, e igualmente da glicólise, como a PEPcarboxilase;

4. O fósforo orgânico encontra-se essencialmente na forma de esteres de fosfato, incluindo fitato (ou fitina). Quando são solubilizados pelos carboxilatos têm de ser hidrolizados para serem absorvidos pelas plantas. As fosfatases ácidas libertadas

pelas raízes quando há carência de fósforo, são capazes de hidrolisar uma grande gama de compostos orgânicos de fósforo. Há raízes capazes de libertar uma quantidade significativa de fitases, ou seja, enzimas capazes de hidrolisar a fitina;

5. O estabelecer de micorrizas que vimos anteriormente, na 1ª parte, no ponto 6.1.2, na página 27.

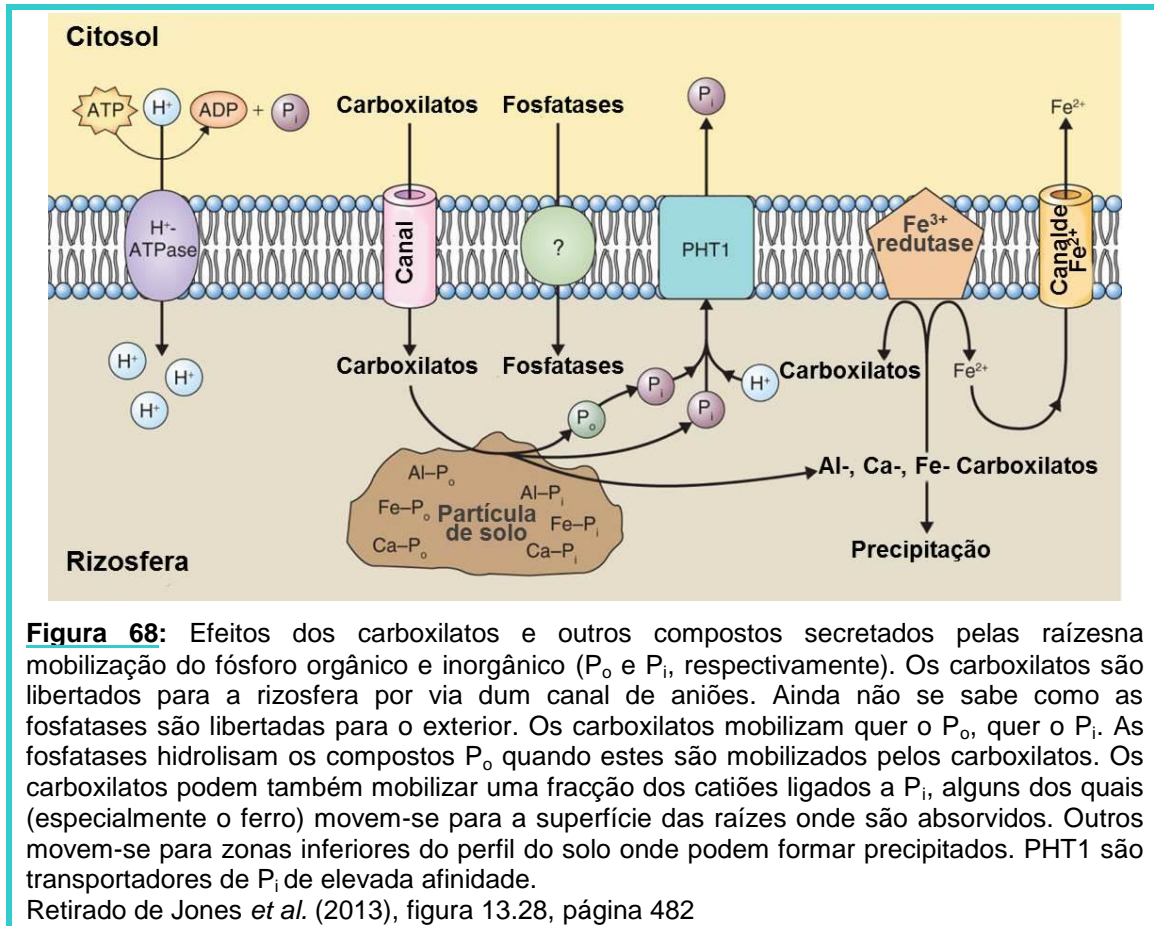


Figura 68: Efeitos dos carboxilatos e outros compostos secretados pelas raízes na mobilização do fósforo orgânico e inorgânico (P_o e P_i, respectivamente). Os carboxilatos são libertados para a rizosfera por via dum canal de aniões. Ainda não se sabe como as fosfatases são libertadas para o exterior. Os carboxilatos mobilizam quer o P_o, quer o P_i. As fosfatases hidrolisam os compostos P_o quando estes são mobilizados pelos carboxilatos. Os carboxilatos podem também mobilizar uma fracção dos cátions ligados a P_i, alguns dos quais (especialmente o ferro) movem-se para a superfície das raízes onde são absorvidos. Outros movem-se para zonas inferiores do perfil do solo onde podem formar precipitados. PHT1 são transportadores de P_i de elevada afinidade.

Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 13.28, página 482

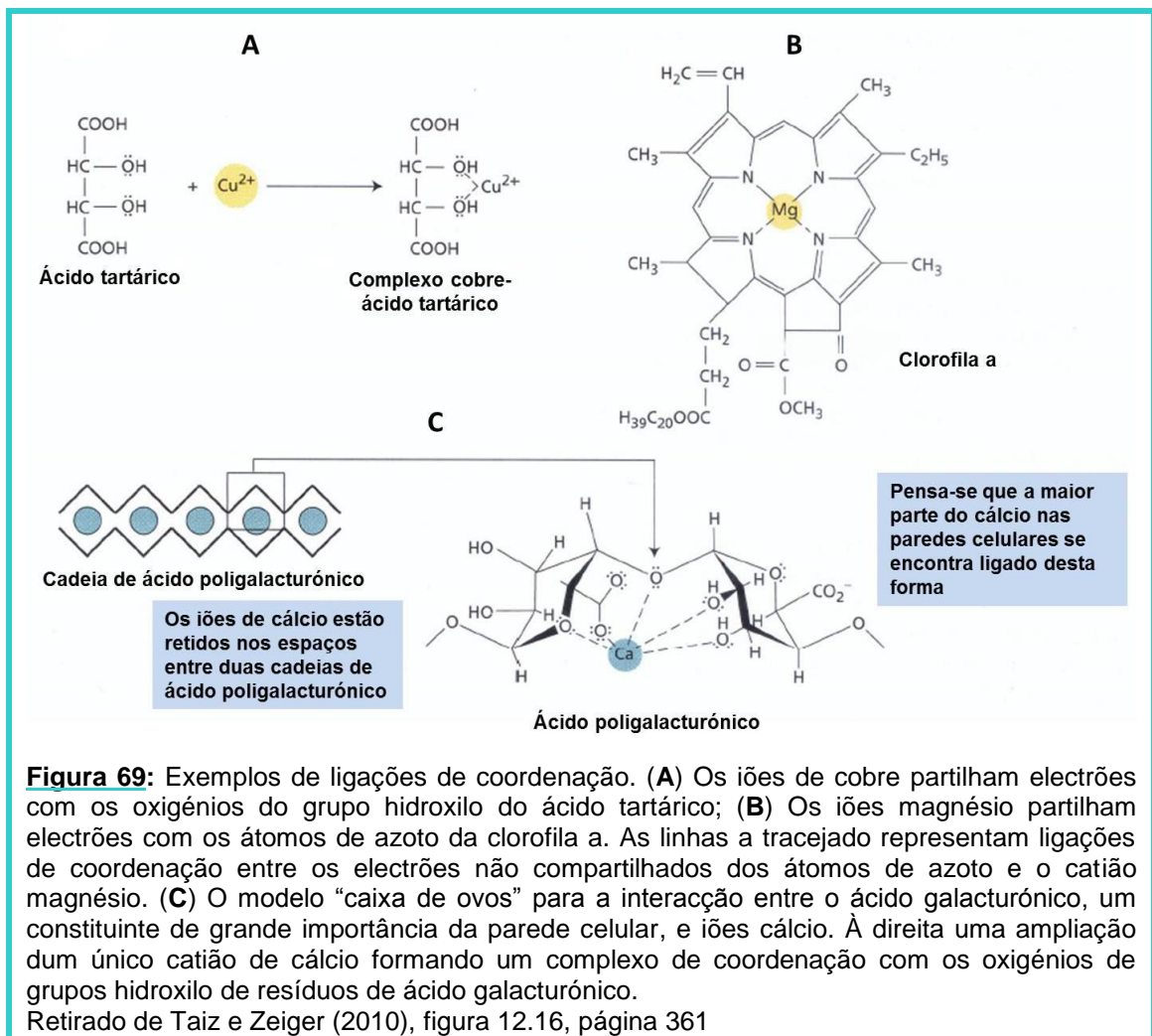
5. O OXIGÉNIO

A respiração é o processo pelo qual a maior parte (cerca de 90%) do oxigénio é assimilado pelas células vegetais. Outra via importante é a assimilação do oxigénio em compostos orgânicos envolvendo a incorporação do oxigénio da água, como é o caso da fixação do CO₂ no Ciclo de Calvin, em que por cada CO₂ fixo é também incorporada uma molécula de água. Uma pequena porção pode ser assimilada em compostos orgânicos na fixação de oxigénio catalisado por **oxigenases**, a mais importante das quais é a enzima **rubisco** (ribulose-2,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase) que durante a fotorrespiração incorpora oxigénio em compostos orgânicos (Taiz e Zeiger, 2010).

6. OS CATIÕES

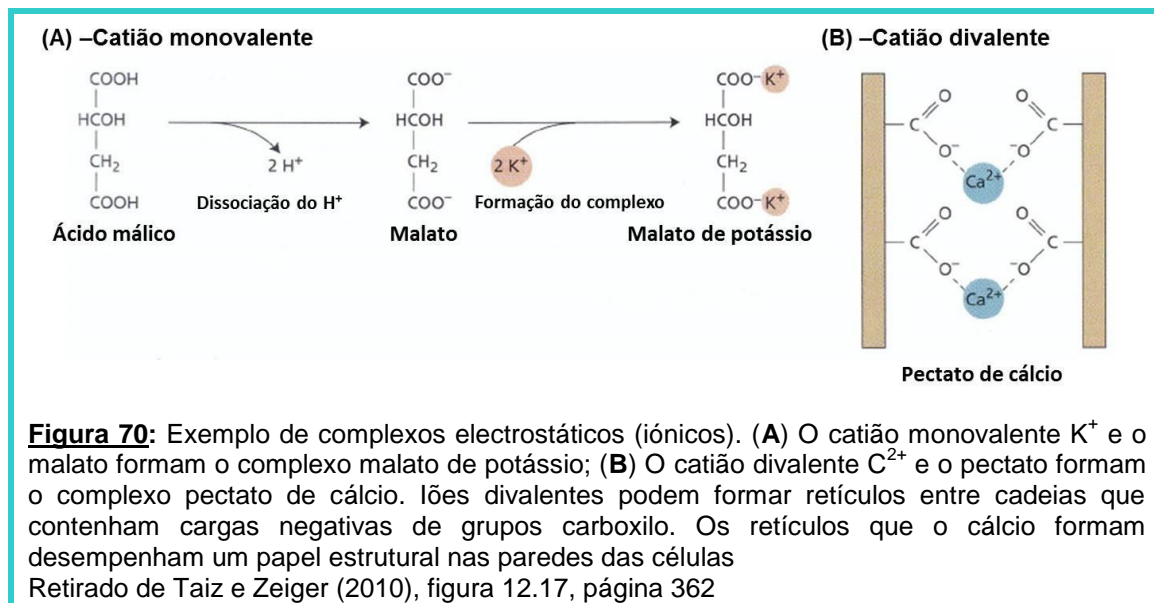
Os cátions absorvidos pelas plantas formam complexos com compostos orgânicos por ligações não covalentes. As plantas assimilam desta forma os cátions macronutrientes potássio, cálcio e magnésio, assim como os cátions micronutrientes cobre, ferro, manganês, cobalto, sódio e zinco. Estas ligações não covalentes são de dois tipos:

1. Ligações de coordenação: em que vários átomos de oxigénio e azoto dum composto orgânico dão electrões não compartilhados para formar uma ligação com o cátion, de modo que a carga do cátion é neutralizada. Este tipo de ligações é característica de cátions polivalentes, como o cobre com o ácido tartárico, o magnésio com a clorofila ou o cálcio com o ácido poligalacturónico das paredes celulares (figura 69).



2. Ligações electroestáticas formam-se devido à atracção da carga positiva do cátion por um grupo com carga negativa como é o caso dum carboxilato. Ao contrário

do que acontecia com as ligações de coordenação, nestas ligações os cátions mantêm a sua carga negativa. Os cátions monovalentes como o potássio (K^+) formam ligações electrostáticas com grupos carboxílico de muitos ácidos orgânicos (figura 70). Iões divalentes como o cálcio formam ligações electrostáticas com pectatos e grupos carboxilo do ácido galacturónico (figura 70). De uma forma geral os cátions como o magnésio e o cálcio são assimilados pela formação de ambos os tipos de ligações com aminoácidos, fosfolípidos e outras moléculas carregadas negativamente (Taiz e Zeiger, 2010).



6.1. A ABSORÇÃO DE CATIÕES MACRONUTRIENTES

6.1.1. O potássio

O potássio constitui um dos elementos mais abundantes da litosfera (cerca de 2,5%) e é o cátion mais abundante das plantas constituindo cerca de 10% da matéria seca. Normalmente, a concentração de K^+ citoplásmico é mantido entre os 80 e 200 mM, enquanto a concentração nos compartimentos subcelulares pode variar muito. O potássio é essencial para um largo espectro de funções ao nível celular ou da planta inteira, podendo actuar como osmótico, como contra-íon difusível ou como activador enzimático (Jones *et al.*, 2013).

O potássio existe no solo em três reservatórios: solução do solo (a forma acessível às plantas); K^+ de troca; K^+ fixo e K^+ sequestrado na estrutura reticular das moléculas de minerais de argila. A dinâmica do movimento entre estes diferentes reservatórios é determinante para a disponibilidade do K^+ para as plantas. As interacções iónicas com outros macronutrientes, nomeadamente o nitrato influencia

fortemente o intercâmbio de potássio entre os vários reservatórios. O potássio é muito móvel na solução do solo e no interior das plantas (Jones *et al*, 2013).

A figura 70 esquematiza o movimento do potássio nas plantas. A passagem do solo para o simplasto da raiz e a sua entrada em diferentes compartimentos subcelulares exige que passe através de membranas. A absorção do potássio

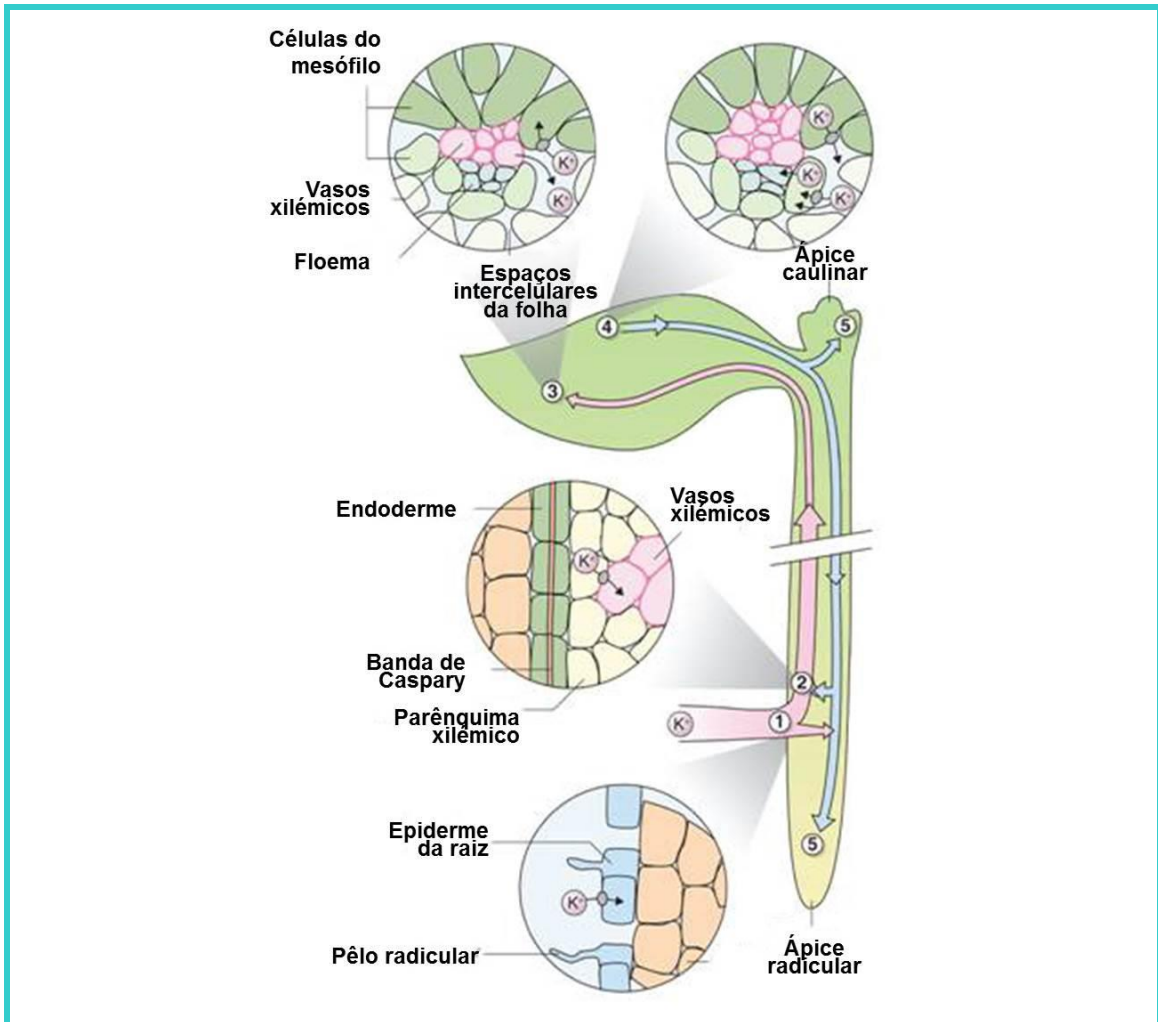
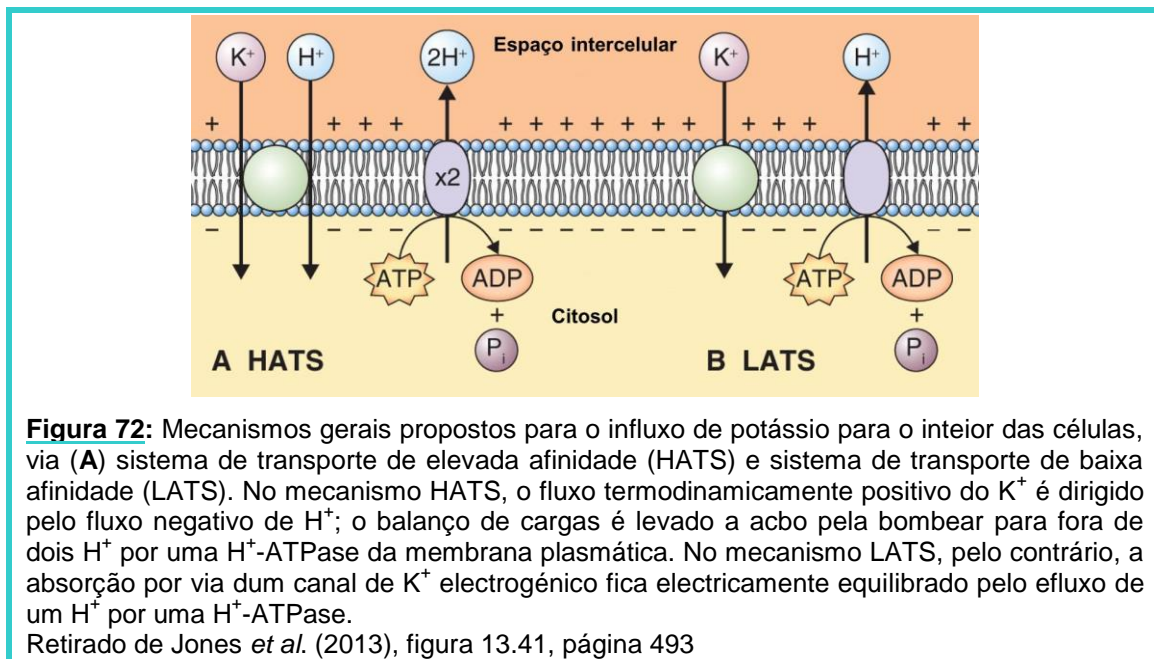


Figura 70: Diagrama que mostra as vias para o transporte de K^+ para o interior e no interior da planta. K^+ é transportado dentro do xilema (setas cor de rosa) e floema (setas azuis). Os números representam locais de transporte importante na via de translocação do potássio. Para quatro dos cinco locais, ampliações mostram o transporte de K^+ a nível celular. (1) K^+ é absorvido através da membrana plasmática das células da raiz. (2) K^+ é transportado das células vivas do parênquima para os vasos xilêmicos que estão mortos. (3) K^+ é transportado pelo xilema para a folha na parte aérea, move-se dos vasos xilêmicos para o apoplasto envolvendo as células na vizinhança e é absorvido pelas células do mesófilo. (4) O K^+ é transportado para o interior do floema numa folha completamente desenvolvida e a fotossintetizar após o seu efluxo das células do mesófilo. O transporte no complexo elemento crivoso-célula companheira pode ocorrer por uma combinação da via simplástica e apoplástica. (5) O K^+ move-se através do floema para os ápices radicular e caulinar de onde sai para uso posterior.

Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 13.40, página 493

faz-se através de um sistema de elevada afinidade (HATS) e um de baixa afinidade (LATS), como vimos na 2ª parte, ponto 2.4, página 62. Em termos moleculares os sistemas de baixa afinidade são normalmente canais de K^+ , enquanto os de elevada afinidade são co-transportadores (figura 72). No entanto, ambos os tipos de transportadores podem funcionar como HATS ou LATS. O transporte por transportador é um transporte passivo, enquanto por co-transportadores é activo secundário (ver página 75). Em ambos os casos é necessária a actividade duma bomba protónica na membrana plasmática para restaurar ou o potencial de membrana, ou o gradiente protónico (Jones *et al.*, 2013).

Em resposta um nível de potássio baixo na planta a expressão dos transportadores do tipo HATS é estimulada e alguns canais K^+ são positivamente regulados. Para além disto, são activadas cascatas sinaléticas, algumas das quais são mediadas por espécies reactivas de oxigénio (ROS – reactive oxygen species) e hormonas tais como auxinas, etileno e ácido jasmónico, usando mecanismos reminiscentes de reacções a stresses, como fermento (Jones *et al.*, 2013).



6.1.2. O cálcio

O cálcio é um nutriente fundamental em termos estruturais e regulatórios. As concentrações de cálcio na solução da rizosfera são da ordem dos milimolar, enquanto o cálcio citosólico é da ordem submicromolar, assim, a entrada do cálcio para o interior das células ocorre geralmente por difusão. Já foram descritos um certo número de canais permeáveis ao cálcio altamente regulados na membrana plasmática das células da raiz. A concentração do cálcio citosólico é mantida por

Ca^{2+} -ATPases e por transportadores de antiporte $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$, que exportam Ca^{2+} do citosol para o apoplasto, compartimentos do sistema endomembranar, plastos e vacúolos. Baixos níveis de cálcio citosólico são sentidos por proteínas que ligam o cálcio incluindo a calmodulina (CaM). CaM liga-se ao cálcio em concentrações micromolares e após estar ligada ao cálcio pode interagir com proteínas alvo tais como proteínas cinases e proteínas fosfatases. O cálcio vacuolar é libertado através de canais permeáveis ao cálcio existentes no tonoplasto e que são dependentes da voltagem, ou com “comportas” que abrem após ligação a um ligando. O retículo endoplásmico é também um reservatório importante para manter a homeostasia de cálcio, e o inositol trifosfato (IP_3) desempenha um papel fundamental na abertura de canais que libertam Ca^{2+} do retículo endoplásmico para o citosol (Jones *et al.*, 2013).

Não existe um gradiente de cálcio no simplasto porque o seu nível no citosol é fortemente controlado e o seu movimento através das raízes ocorre essencialmente por difusão através do apoplasto. A banda de Caspary, que bloqueia o movimento no apoplasto para o cilindro central, é uma barreira ao movimento do cálcio do córtex da raiz para o xilema. Pensa-se que a entrada de cálcio para o xilema da raiz ocorre essencialmente nas zonas apicais da raiz antes da endoderme se diferenciar, e também nos pontos de iniciação de raízes laterais nas quais a banda de Caspary é perturbada. O cálcio é distribuído na planta predominantemente pelo xilema, na forma de Ca^{2+} livre ou complexado com ácidos orgânicos. Os grupos negativamente carregados de pectinas e lenhinas nas paredes das células do xilema tendem a impedir o movimento do Ca^{2+} em relação ao fluxo em massa do xilema. Quantidades significativas de cálcio podem ser perdidas do sistema vascular por difusão lateral e precipitação na forma de oxalato de cálcio. A fraca mobilidade geral do cálcio pode levar a sintomas de deficiência nos órgãos terminais, tal como acontece na podridão do tomate “blossom-end rot” (Jones *et al.*, 2013).

6.1.3. O magnésio

Os iões magnésio são necessários especificamente para a actividade de enzimas fundamentais, incluindo as da biossíntese dos ácidos nucleicos, fotossíntese e respiração. O magnésio tem também um papel estrutural no anel tetrapirrólico da clorofila. A concentração de magnésio no solo é de cerca de 0,1-8,5 mM, e no citosol é de cerca de 0,4 mM. O Mg^{2+} entra nas células da raiz por via de canais de Mg^{2+} da membrana plasmática e é transportado no xilema quer na forma livre quer em quelatos (Jones *et al.*, 2013).

6.2. A ABSORÇÃO DE CATIONES MICRONUTRIENTES

Ainda se sabe pouco sobre a forma como as plantas adquirem e assimilam os micronutrientes, sejam os aniônicos: cloro (Cl^-), boro (H_2BO_3^-) e molibdênio (MoO_4^{2-}), sejam os catiónicos: manganês (Mn^{2+}), zinco (Zn^{2+}), cobre (Cu^{2+}), níquel (Ni^{2+}) e o ferro (Fe^{2+}).

6.2.1. O zinco

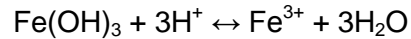
O estudo do zinco tem avançado devido ao seu importante papel estrutural e funcional em factores de transcrição, assim como a sua associação a enzimas muito importantes como a superóxido dismutase. Assim, foram isolados um certo número de transportadores de zinco e outros micronutrientes chamados **ZIPs** [ZRT-like (zinc regulated transporter-like), IRT-like protein]. Os transportadores ZIP são ubíquos, tendo sido identificados em bactérias, fungos, mamíferos e plantas. O zinco é translocado e sequestrado em complexos com citrato, nicotianamina ou malato (Jones *et al.*, 2013).

6.2.2. O ferro

O ferro é essencial para processos de transferência electrónica através de reacções redox reversíveis, revertendo ciclicamente entre Fe^{2+} e Fe^{3+} , como por exemplo nos citocromos e na ferredoxina. Ainda que o ferro seja o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre, a sua solubilidade é limitada, o que leva a que a concentração em Fe^{2+} e Fe^{3+} seja inferior a 10^{-15} M, em solos bem arejados e a pH fisiológico, ou seja, está pouco disponível para plantas. Para além disto, outros minerais como o cálcio podem intensificar a carência em ferro. Cerca de um terço dos solos agrícolas são calcários, e por isso considerados como sendo deficientes em ferro, o que leva a um decréscimo da colheita potencial. As características químicas do ferro impõem limitações à sua acumulação pelas plantas, porque tanto o Fe^{2+} como o Fe^{3+} catalizam a redução do oxigénio molecular para espécies reactivas (ROS). Uma vez no simplasto, o ferro é mantido numa forma solúvel e transportável pela ligação a agentes quelatizantes como o citrato e a nicotianamina, evitando a formação de ROS. As plantas desenvolveram duas estratégias para absorver o ferro do solo (Jones *et al.*, 2013):

1. Nas dicotiledóneas e monocotiledóneas diferentes das gramíneas uma deficiência em ferro desencadeia um processo que envolve a acidificação da solução do solo e a redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} que é mais facilmente absorvível (figura 73);
2. Nas gramíneas as plantas empregam uma estratégia baseada em agentes quelatizantes (figura 75).

Em condições aeróbicas, o ferro do solo está na forma de óxidos de ferro. Em condições de deficiência em ferro as dicotiledóneas e as monocotiledóneas diferentes das gramíneas secretam protões para a rizosfera, diminuindo o pH da solução do solo e aumentando a solubilidade em Fe^{3+} :



Diminuir o pH de 8 para 4 aumenta a concentração em Fe^{3+} de 10^{-20} para 10^{-9} M. A H^+ -ATPase da membrana plasmática parece estar envolvida neste processo. Para poder ser absorvido pelas raízes o Fe^{3+} tem ainda de ser reduzido a Fe^{2+} que é uma forma mais solúvel, pela **redutase oxidase férrica** (FRO ferric reductase oxidase) Jones *et al.*, 2013). Para isso, as plantas libertam para o solo ácidos orgânicos que funcionam como agentes quelatizantes, como por exemplo o **ácido cafeico**

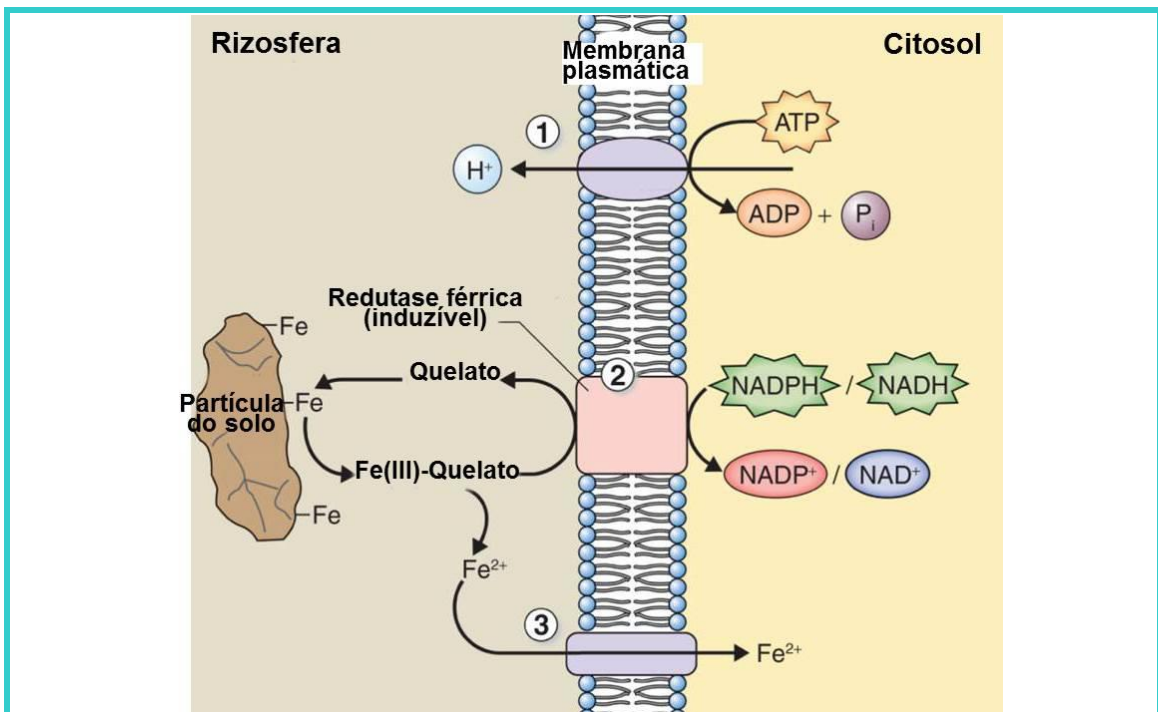


Figura 73: Absorção de ferro por dicotiledóneas e monocotiledóneas diferentes das gramíneas. Estão representados os componentes da membrana plasmática que são induzidos por uma deficiência em ferro. (1) AHA2, que é um membro da família das H^+ -ATPases da membrana plasmática; (2) redutase oxidase férrica induzível (FRO2); (3) transportador de Fe^{2+} de elevada afinidade (IRT1).

Retirado de Jones *et al.* (2013), figura 13.44, página 497

(figura 74). Estes ligandos quelatam essencialmente a forma Fe^{3+} . Os quelatos formados são atraídos para a superfície das raízes onde o ferro é reduzido para o Fe^{2+} , ainda no quelato (Hopkins e Hüner, 2009). O Fe^{2+} é transportado para as células da raiz pelo **IRT1** (iron regulated transporter 1). Este transportador é expresso na membrana plasmática das células da epiderme de raízes deficientes em ferro.

Vários estudos mostram que esta proteína pode também transportar outros cátions metálicos divalentes como o zinco, o manganês e o cádmio (Jones *et al.*, 2013).

Ácido cafeico

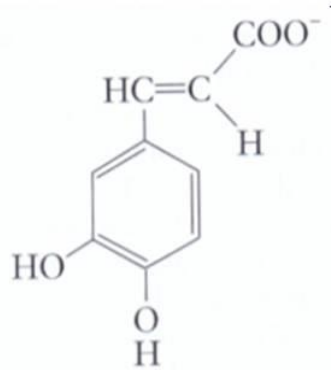


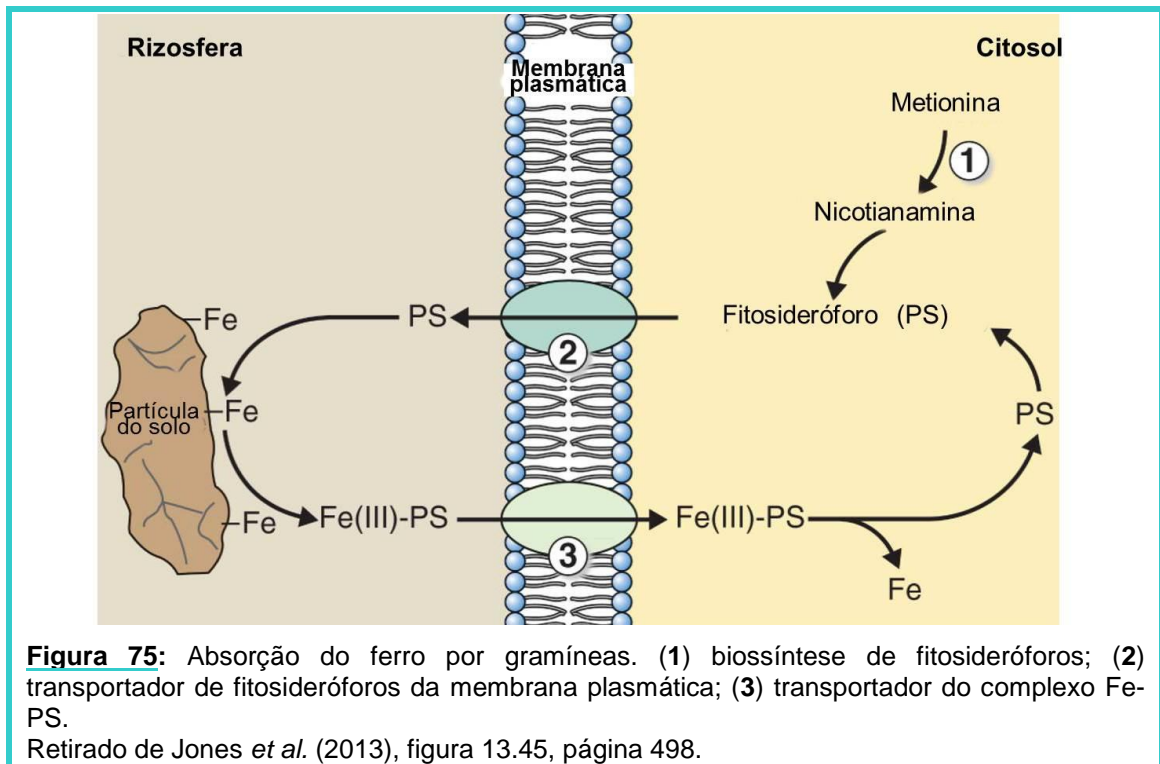
Figura 74: Exemplo de um ácido orgânico que funciona como agente quelatizante para a redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} . O ácido cafeico é um de muitos ácidos fenólicos que ocorrem naturalmente e que pode ser secretado pelas raízes.
Retirado de Hopkins e Hüner (2009), figura 4.4, página 71

Em condições de deficiência em ferro as gramíneas como o milho (*Zea mays* L.), o trigo (*Triticum* spp.) e o arroz (*Oryza sativa* L) usam uma estratégia diferente para obter o ferro. Estas plantas libertam **fitosideroforos**¹⁵ (PS) de baixo peso molecular (figura 75), como o **ácido mugineico** ou o **ácido avénico** (figura 76). PSs são agentes quelatizantes que se ligam ao Fe^{3+} na rizosfera disponibilizando-o para ser absorvido pelas raízes. A eficiência desta resposta mediada por quelatos permite que certas gramíneas sobrevivam em condições de grande deficiência em ferro onde outras plantas não sobreviveriam. Os PSs podem quelatizar outros cátions para além do Fe^{3+} , como Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} e Co^{2+} e têm uma função na absorção destes iões. O Complexo Fe(III)-PS é transportado para dentro das células da epiderme de raízes deficientes em ferro por transportadores da membrana plasmática, como o YS1 (*Yellow Stripe 1*). Esta proteína transporta o complexo Fe^{3+} -ácido mugineico por simporte com prótons. Uma vez dentro do simplasto da raiz, o ferro no complexo quelatizante difunde-se através dos plasmodesmos para o cilindro central. Vários passos de quelatização e oxidação-redução, de transporte e associação com proteínas, permitem a solubilização, a translocação, a compartimentalização, a remobilização, o armazenamento e a tamponização do ferro (Jones *et al.*, 2013).

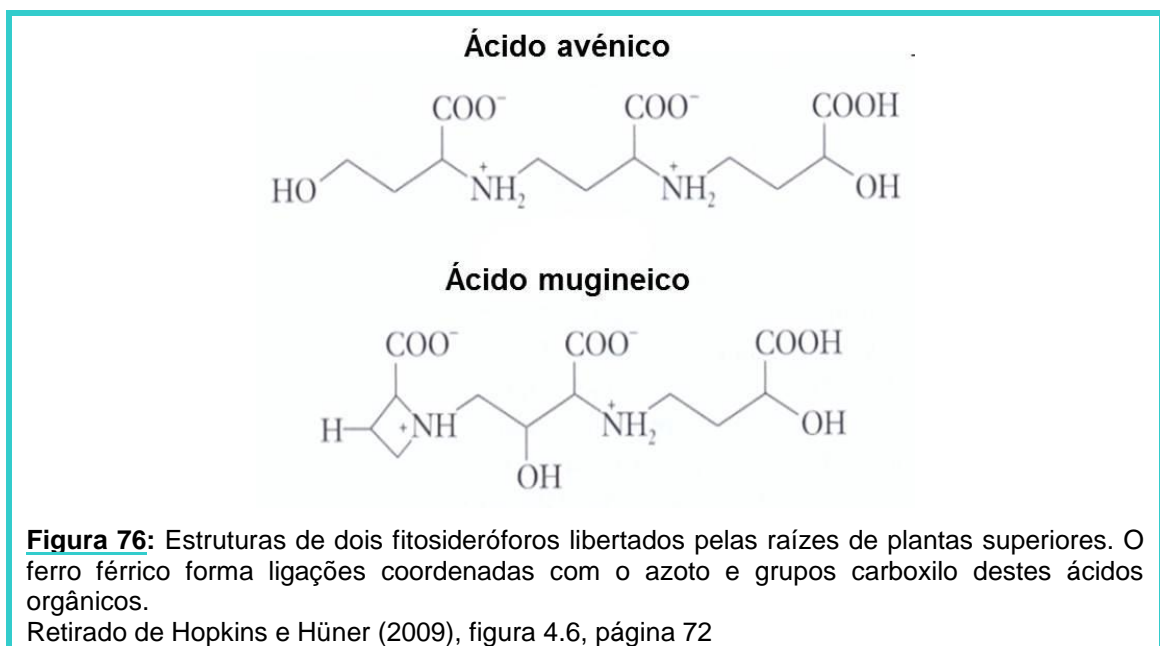
A homeostasia do ferro é necessária para a formação da heme, de grupos prostéticos Fe-S e para a sua montagem em apoproteínas. O armazenamento e a

¹⁵ Fitosideróforos = do grego: fito (planta) + sideroforos (portadores de ferro) em Hopkins e Hüner, 2009

tamponização do ferro a nível subcelular é essencial para evitar a deficiência ou a toxicidade em ferro. Os plastos sequestram uma fracção importante do ferro celular na forma de **ferritina** que é uma molécula de proteína que pode criar uma



“nanogaiola” que pode enclausurar até 4500 átomos de ferro na forma de óxido de ferro. Em sementes maduras o ferro armazenado está associado a inclusões globoides vacuolares contendo fitina (Jones *et al.* (2013).



As plantas têm mecanismos eficazes de sentir o nível em ferro e sinalizar deficiências neste elemento, mas ainda são pouco compreendidos. A proteína **FIT1** (Fe-induced deficiency transcription factor 1) é um factor de transcrição cuja expressão é positivamente regulada pela deficiência em ferro. Pensa-se que regula cerca de 405 dos genes induzíveis pelo ferro, como *FRO2* e *IRT1*. A síntese de FIT é, por sua vez, sensível ao etileno o que sugere que o controlo hormonal pode ter alguma função na sensibilidade ao ferro.

BIBLIOGRAFIA:

- AHMAD, M.S. e M. ASHRAF** (2011) – “Essential roles and hazardous effects of nickel in plants”, *Review of Environmental Contamination and Toxicology* 214:125-167
- BRITTO, D.T. e H.J. KRONZUCKER** (2008) – “Cellular mechanisms of potassium transport in plants”, *Physiologia Plantarum* 133:637-650
- GASIC, K. e KORBAN, S.S.** (2006) – “Heavy metal stress”, in Rao, K.V; A.S. Raghavendra e K.J. Reddy Eds – “Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance”, Springer, Neetherlands
- HOPKINS, W.G. e N.P.A. HÜNER** (2009) – “Introduction to Plant Physiology” 4th Edition, John Wiley and Sons, Inc., USA
- JONES, J. BENTON** (2012) – “Plant Nutrition and Soil Fertility Manual” 2nd Edition, CRC Press, USA
- JONES, R.; H. OUGHAM; H. THOMAS e S. WAALAND** (2013) – “The Molecular Life of Plants” – American Society of Plant Biologists, Wiley-Blackwell, UK
- KING, J.** (2011) – “Reaching for the Sun” 2nd Edition, Cambridge University Press, UK
- LARCHER, W.** (2001) - “Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups”. 4th Edition English translation from 2003 Springer-Verlag, Berlin – New York
- LAWLOR, D.W.** (1987) – “Photosynthesis: metabolism, control and physiology” Longman Scientific and Technical, UK
- MARSCHNER, H.** (1991) – “Plant-soil relationship: acquisition of mineral nutrients by roots from soils” in Porter, J.R. e D.H. Lawlor Eds. – “ Plant growth: interactions with nutrition and environment”, Cambridge University Press, London
- MAUSETH, J.D.** (2009) – “Botany: an introduction to plant biology”, 4th Edition, Jones and Bartlett Publishers International, London
- MILGROM, Y.M.** (2010) – “ATP binding and hydrolysis steps of the uni-site catalysis by the mitochondrial F1-ATPase are affected by inorganic phosphate”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1797:1768–1774
- ÖPIK, H e S. ROLFE** (2005) – “The Physiology of Flowering Plants” Cambridge University Press, UK
- PEREZ, M.L.** (1999) “Handbook of Agriculture” Marcel Dekker, New York
- NOGGLE, G.R. e G.J. FRITZ** (1976) - “Introductory plant physiology” Prentice Hall, London

- REDDY, K.J.** (2006) – “Nutrient Stress”, in Rao, K.V; A.S. Raghavendra e K.J. Reddy Eds – “Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance”, Springer, Neetherlands
- SACALA, E.; A. DEMCZUK; E. GRZYS e Z. SPIAK** (2008) – “Effect of Salt and Water Stress on Growth, Nitrogen and Phosphorus metabolism in *Cucumis sativus* Seedlings”, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 77:23-28
- SALISBURY, F.B. e C.W. ROSS** (1992) - “Plant physiology”
4th Edition, Wadsworth Publishing Company, California
- SEBANEK, J.** (1992) - “Plant physiology”
Elsevier, Amsterdam
- SUTCLIFFE, J.F. e D.A. BAKER** (1981) - “Plants and mineral salts”
Edward Arnold, London
- TAIZ, L. e E. ZEIGER** (2006 e 2010) – “Plant Physiology”
4th and 5th Editions, Sinauer Associates, Inc, USA
- WILLEY, J.M.; L.M. SHERWOOD e C.J. WOOLVERTON** (2008) – “Prescott, Harley, and Klein’s Microbiology” 7th Ed. McGraw-Hill International Edition

ANEXO 1- Soluções nutritivas

Tabela 13: Composição de soluções nutritivas de vários autores
Retirado de Sutcliffe e Baker (1981), tabela 2, página 10

A. Solução de Sachs (1860)		g L ⁻¹ água destilada	
KNO ₃		1,00	
Ca ₃ (PO ₄) ₂		0,50	
MgSO ₄ .7H ₂ O		0,50	
CaSO ₄		0,50	
NaCl		0,25	
FeSO ₄		Vestígios	

B. Solução de Knop (1865)		g L ⁻¹ água destilada	
Ca(NO ₃) ₂		0,8	
KNO ₃		0,2	
KH ₂ PO ₄		0,2	
MgSO ₄ .7H ₂ O		0,2	
FePO ₄		0,1	

C. Solução de Hoagland (Arnon e Hoagland, 1940)			
Macronutrientes	g L ⁻¹ água destilada	Micronutrientes	mg L ⁻¹ água destilada
KNO ₃	1,02	H ₃ BO ₃	2,86
Ca(NO ₃) ₂	0,49	MnCl ₂ 4H ₂ O	1,81
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,23	CuSO ₄ 5H ₂ O	0,08
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,49	ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,22
		H ₂ MoO ₄ H ₂ O	0,09
		FeSO ₄ 7H ₂ O (0,5%)	} 0,6 mL L ⁻¹
		Ácido tartárico (0,4%)	

D. Fórmula de Long Ashton (Hewitt , 1966)				
Nutriente	g L ⁻¹	mM L ⁻¹	Elemento	p.p.m.
KNO ₃	0,505	5,0	K	195
			N	70
Ca(NO ₃) ₂	0,82	5,0	Ca	200
			N	140
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	0,208	1,33	P	41
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,369	3,0	Mg	24
Citrato férrico	0,024 5	0,1	Fe	5,6
MnSO ₄	0,002 23	0,01	Mn	0,55
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,000 24	0,001	Cu	0,064
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,000 296	0,001	Zn	0,065
H ₃ BO ₃	0,001 86	0,033	B	0,37
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,000 035	0,0002	Mo	0,019
CoSO ₄ .7H ₂ O	0,000 028	0,0001	Co	0,0006
NaCl	0,005 85	0,1	Cl	3,35

Tabela 14: Composição da solução nutritiva de Hoagland modificada
Retirado de Taiz e Zeiger (2010), tabela 5.3, página 112

Solução modificada de Hoagland , segundo Epstein (1972)						
Nutriente	Solução "Stock" (SS)		Vol,SS Sol.Final	Solução FINAL		
	g L ⁻¹	mM		Elemento	µM	p.p.m.
Macronutrientes						
KNO ₃	101,10	1 000	6,0	N	16 000	224
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,16	1 000	4,0	K	6 000	235
NH ₄ H ₂ PO ₄	115,08	1 000	2,0	Ca	4 000	160
MgSO ₄ .7H ₂ O	246,49	1 000	1,0	P	2 000	62
				S	1 000	32
				Mg	1 000	24
Micronutrientes						
KCl	1,864	25	} 2	Cl	50	1,77
H ₃ BO ₃	0,773	12,5		B	25	0,27
MnSO ₄ .H ₂ O	0,169	1,0		Mn	2,0	0,11
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,288	1,0		Zn	2,0	0,13
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,062	0,25		Cu	0,5	0,03
H ₂ MoO ₄ (85%MoO ₃)	0,040	0,25		Mo	0,5	0,05
NaFeDTPA	30,0	64	0,3 - 1,0	Fe	16,1- 53,7	1,00- 3,00
Opcional^a						
NiSO ₄ .6H ₂ O	0,066	0,25	2,0	Ni	0,5	0,03
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	284,20	1 000	1,0	Si	1 000	28

Nota: Os macronutrientes são adicionados separadamente a partir das soluções "stock" para evitar a precipitação durante a preparação da solução nutritiva. Uma solução "stock" única é preparada para os micronutrientes, com exceção do ferro. O ferro é adicionado na forma de (NaFeDTPA) dietilenotriaminopentacetato de sódio férrico. Algumas plantas tais como o milho requerem o nível mais elevado de ferro indicado na tabela

^a O níquel está normalmente presente como contaminante de outros químicos pelo que pode não ser necessário adicioná-lo. O silício, se for adicionado, deve sê-lo em primeiro lugar e o pH ajustado com HCl, de forma a evitar a precipitação de outros nutrientes.

ANEXO 2- Solos e deficiências em elementos minerais

Tabela 15: Tipos de solos em função da deficiência num **macronutriente mineral**.
Retirado de Jones (2012), páginas 9 - 11

Elemento	Tipos de solos
Azoto (N)	<ul style="list-style-type: none"> • Solos arenosos em que o N foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos minerais pobres em matéria orgânica; • Utilização agrícola por grande período de tempo sem haver a necessária reposição de N.
Fósforo (P)	<ul style="list-style-type: none"> • Solos minerais pobres em matéria orgânica; • Utilização agrícola por grande período de tempo sem haver a necessária reposição de P; • Solos ricos em P, mas que foram perdidos por erosão; • Solos calcários em que a disponibilidade em P é reduzida devido ao pH alcalino.
Potássio (K)	<ul style="list-style-type: none"> • Solos minerais pobres em matéria orgânica; • Solos com fraca capacidade de troca catiónica; • Utilização agrícola por grande período de tempo sem haver a necessária reposição de potássio; • Solos arenosos formados de rochas pobres em K; • Solos arenosos em que o K foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva;
Cálcio (Ca)	<ul style="list-style-type: none"> • Solos ácidos e arenosos em que o Ca foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos de turfa fortemente ácidos; • Solos sódicos e alcalinos (ricos em sódio (Na) e de pH elevado); • Solos com elevado teor em alumínio (Al) solúvel e fraco conteúdo em Ca de troca.
Magnésio (Mg)	<ul style="list-style-type: none"> • Solos arenosos e ácidos em que o Mg foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos ácidos com pH inferior a 5,4; • Solos de turfa fortemente ácidos; • Solos excessivamente fertilizados com Ca e/ou K.
Enxofre (S)	<ul style="list-style-type: none"> • Solos minerais pobres em matéria orgânica; • Utilização agrícola por grande período de tempo sem haver a necessária reposição de S; • Solos ácidos e arenosos em que o S foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos formados de rochas pobres em S; • Fraca deposição de S por chuva ácida; • Uso de fertilizantes NPK pobres em sulfatos.

Tabela 15 (Cont.): Tipos de solos em função da deficiência num **micronutriente mineral**.
Retirado de Jones (2012), páginas 9 - 11

<p>Boro (B)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Solos ácidos provenientes de rochas ígneas; • Solos arenosos em que o B foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos calcários; • Solos pobres em matéria orgânica; • Solos ácidos de turfa.
<p>Cobre (Cu)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Solos de turfa; • Solos arenosos e calcários; • Solos fortemente lixiviados; • Solos formados de rochas pobres em Cu;
<p>Ferro (Fe)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Solos calcários pobres em ferro solúvel; • Solos encharcados; • Solos ácidos com conteúdos excessivos em Mn, Zn, Cu e Ni solúveis; • Solos arenosos pobres em Fe total; • Solos de turfa.
<p>Manganês (Mn)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Solos calcários com fraca disponibilidade em Mn; • Solos ricos em matéria orgânica mas fraca drenagem; • Solos fortemente ácidos e arenosos em que o Mn foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos formados de rochas pobres em Mn;
<p>Molibdênio (Mo)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Solos arenosos; • A disponibilidade aumenta com o aumento em pH; • Para algumas culturas a calagem corrige uma deficiência em Mo.
<p>Zinco (Zn)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Solos alcalinos; • Solos arenosos em que o Zn foi lixiviado por chuvas fortes ou irrigação excessiva; • Solos nivelados em que o subsolo pobre em Zn ficou exposto; • Solos em que houve fortes e frequentes aplicações de P.

ANEXO 3: Local de acumulação e facilidade de transporte dos nutrientes minerais

Tabela 16: Local de acumulação e transporte dos nutrientes minerais, agrupados pela função dos nutrientes nas plantas. Retirado de Larcher (2001), tabela 3.4, páginas 197 e 198

	Locais de acumulação	Facilidade de transporte
Grupo 1	Nutrientes que são parte de compostos de carbono	
Azoto (N)	Caules e folhas jovens; gemas, sementes e órgãos de armazenamento	Bom – essencialmente na forma orgânica
Enxofre (S)	Folhas e sementes	Bom – na forma orgânica; FRACO – forma iónica
Grupo 2	Nutrientes que são importantes no transporte de energia e integridade estrutural	
Fósforo (P)	Órgãos reprodutores (grãos de pólen)	Bom – na forma orgânica
Boro (B)	Folhas e ápices caulinares	Fraco
Grupo 3	Nutrientes que permanecem na forma iónica	
Potássio (K)	Meristemas; tecidos jovens; locais de metabolismo intenso	Bom
Cálcio (Ca)	Folhas e ritidoma	Muito fraco
Magnésio (Mg)	Folhas	Médio
Cloro (Cl)	Folhas	Bom
Manganês (Mn)	Folhas	Fraco em parte
Grupo 4	Nutrientes intervenientes em reacções redox	
Ferro (Fe)	Folhas	Fraco
Zinco (Zn)	Raízes e caules	Fraco
Cobre (Cu)	Partes lenhificadas	Fraco
Níquel (Ni)		
Molibdénio (Mo)	-----	Fraco

ANEXO 4 – Sintomas de deficiências em nutrientes minerais

Tabela 17: Sintomas de **deficiências** em nutrientes minerais, agrupados pela função dos nutrientes nas plantas.

Retirado de Salisbury e Ross (1992), tabela 6.4, página 130 e Jones (2012), tabela 3.6., página 29 e para o níquel Ahmad (2011)

Grupo 1	Nutrientes que são parte de compostos de carbono
Azoto (N)	A planta aparece verde claro, com as folhas mais abaixo a secarem e a ficarem castanho claro. O crescimento da planta é lento. As plantas amadurecem precocemente e são atarracadas. Se a deficiência se declarar em estádios avançados do desenvolvimento, os caules tornam-se curtos e finos.
Enxofre (S)	Folhas jovens com as veias e o tecido entre elas verde claro. As folhas mais velhas vão passando do verde mais claro a amarelo à medida que a deficiência se intensifica.
Grupo 2	Nutrientes que são importantes no transporte de energia e integridade estrutural
Fósforo (P)	O crescimento da plantas é lento e as plantas ficam mais pequenas. A planta aparece verde escuro, e as folhas mais velhas desenvolvem cores avermelhadas ou arroxeadas. Se a deficiência se declarar em estádios avançados do desenvolvimento, os caules tornam-se curtos e finos.
Boro (B)	Desenvolvimento anormal dos ápices (tecido meristemático); os ápices ficam mais fracos e morrem. As flores e os frutos abortam o que reduz significativamente a colheita de frutos e sementes. Os caules tornam-se quebradiços e podem mesmo quebrar-se.
Grupo 3	Nutrientes que permanecem na forma iónica
Potássio (K)	Pequenas manchas de tecidos mortos, geralmente nos ápices e entre as veias, sendo mais marcantes nas margens das folhas. Os caules são finos. As plantas ficam mais sensíveis a ataques por agentes patogénicos.
Cálcio (Ca)	As folhas jovens, ainda na gema terminal, apresentam uma forma de gancho que é típica desta deficiência. Geralmente os tecidos das margens e das extremidades morrem. Se a folha conseguir continuar a crescer, então parece ter sido cortada. O caule morre na gema terminal. Muitos frutos apresentam podridão apical.
Magnésio (Mg)	As folhas mais velhas ficam amareladas com cloroses entre as nervuras. O crescimento é mais lento e algumas plantas ficam mais susceptíveis às doenças.
Cloro (Cl)	As folhas mais jovens ficam cloróticas e as plantas murcham facilmente.
Manganês (Mn)	Cloroses intervenhais nas folhas mais jovens enquanto que a maioria das folhas permanecem verdes. Em condições mais extremas o crescimento diminui e as plantas ficam mais pequenas.

Tabela 17 (Cont.): Sintomas de **deficiências** em nutrientes minerais, agrupados pela função dos nutrientes nas plantas. Retirado de Salisbury e Ross (1992), tabela 6.4, página 130; Jones (2012), tabela 3.6., página 29 e para o níquel Ahmad (2011)

Grupo 4	Nutrientes intervenientes em reacções redox
Ferro (Fe)	Cloroses entre as nervuras em folhas jovens e nas folhas em formação e finalmente os rebentos podem ficar esbranquiçados. Em casos mais severos toda a planta pode ficar verde claro.
Zinco (Zn)	As folhas mais jovens apresentam cloroses entre as nervuras ficando com um aspecto esbranquiçado. As folhas podem ficar mais pequenas e distorcidas formando rosetas.
Cobre (Cu)	Folhas jovens permanentemente secas sem manchas ou cloroses marcadas. Em estádios avançados do desenvolvimento, quando a carência é aguda, os ramos ou o caule, logo abaixo do ápice, perdem a capacidade para permanecer erectos.
Níquel (Ni)	Redução da actividade da urease, alterações na assimilação do N e redução da procura e metabolização de radicais superóxido.
Molibdénio (Mo)	Sintomas semelhantes à deficiência em N. As folhas mais velhas e intermediárias tornam-se cloróticas e nalguns casos as margens enrolam-se. O crescimento e a formação das folhas ficam restringidos.

ANEXO 5: Sintomas de excessos em nutrientes minerais

Tabela 18: Sintomas de **excessos** em nutrientes minerais, agrupados pela função dos nutrientes nas plantas.

Retirado de Salisbury e Ross (1992), tabela 6.4, página 130; Jones (2012), tabela 3.6., página 29 e para o níquel Ahmad (2011)

Grupo 1	Nutrientes que são parte de compostos de carbono
Azoto (N)	Na forma NO³⁻: As plantas ficam verde escuro. As partes mais jovens ficam suculentas. Crescimento excessivamente rápido da parte aérea, poucos tecidos de suporte, sistema radicular pouco desenvolvido, desenvolvimento reprodutivo retardado As plantas ficam mais susceptíveis a doenças e ao stresse da seca. Na forma NH⁴⁺: Crescimento reduzido. Lesões nos caules e folhas encurvadas para baixo. Destruição dos tecidos condutores na base dos caules. Podem ocorrer deficiências em Mg.
Enxofre (S)	Podem ocorrer senescência prematura das folhas.
Grupo 2	Nutrientes que são importantes no transporte de energia e integridade estrutural
Fósforo (P)	Podem aparecer sintomas de deficiência em Zn, Fe ou Mn. Pode também haver interferência com a absorção do Ca.
Boro (B)	Os ápices foliares e as margens ficam castanhos e acabam por morrer.
Grupo 3	Nutrientes que permanecem na forma iônica
Potássio (K)	As plantas podem exibir sintomas de deficiência em Mg e possivelmente em Ca devido a um desequilíbrio catiónico.
Cálcio (Ca)	Plantas podem exibir deficiências em Mg. Em casos mais agudos pode ocorrer também deficiências em K.
Magnésio (Mg)	Dá origem a um desequilíbrio catiónico com possível deficiência em Ca ou K.
Cloro (Cl)	As folhas mais velhas ficam prematuramente amareladas com as extremidades e os ápices queimados. Ocorre abscisão foliar e a planta murcha facilmente.
Manganês (Mn)	As folhas mais velhas apresentam manchas castanhas rodeadas por zonas cloróticas.

Tabela 18 (Cont.): Sintomas de **excessos** em nutrientes minerais, agrupados pela função dos nutrientes nas plantas.
Retirado de Salisbury e Ross (1992), tabela 6.4, página 130; Jones (2012), tabela 3.6., página 29 e para o níquel Ahmad (2011)

Grupo 4	Nutrientes intervenientes em reacções redox
Ferro (Fe)	As folhas mais velhas ficam acastanhadas com pequenas manchas castanhas o que pode ser um sintoma típico em certas espécies.
Zinco (Zn)	Desenvolvem-se sintomas de deficiência em Fe.
Cobre (Cu)	Desenvolvem-se sintomas de deficiência em Fe com um crescimento muito lento e as raízes podem ficar atarracadas.
Níquel (Ni)	Atrasa a germinação de sementes em muitas culturas. Retarda o crescimento da parte aérea e das raízes. Deforma as flores. Produz deficiência em Fe levando a cloroses e necroses foliares. Compete com a absorção de outros catiões divalentes como o Ca, o Mg, o Fe e o Zn.
Molibdénio (Mo)	Deformação das folhas e coloração amarelo dourado dos tecidos da parte aérea.

ANEXO 6: Cálculo da concentração interna de iões

$$\log C^i / C^o = -zF\Delta E / 2,3RT$$

$$F = 96490 \text{ JV}^{-1} \text{ mol}^{-1}$$

$$R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$$

$$T = 298 \text{ K}$$

Potássio (K⁺) e sódio (Na⁺):

Ervilheira (*Pisum sativum* L.)

$$\Delta E = -0,110 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [-1 \times 96490 \text{ (JV}^{-1}\text{mol}^{-1}) \times -0,110 \text{ (V)}] / 2,3 \times 8,314 \text{ (Jmol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \times 298 \text{ (K)}$$

$$\log C^i / C^o = 10613,9 / 5698,42 = 1,86$$

$$C^i / C^o = 10^{1,86} = 72,44 \Rightarrow C^i = 72,44 \times C^o \Rightarrow C^i = 72,44 \times 1 \Rightarrow \mathbf{C^i = 72,44}$$

Aveia (*Avena sativa* L.)

$$\Delta E = -0,084 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [-1 \times 96490 \text{ (JV}^{-1}\text{mol}^{-1}) \times -0,084 \text{ (V)}] / 2,3 \times 8,314 \text{ (Jmol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \times 298 \text{ (K)}$$

$$\log C^i / C^o = 8105,16 / 5698,42 = 1,42$$

$$C^i / C^o = 10^{1,42} = 26,3 \Rightarrow C^i = 26,3 \times C^o \Rightarrow C^i = 26,3 \times 1 \Rightarrow \mathbf{C^i = 26,3}$$

Cálcio (Ca²⁺):

Ervilheira (*Pisum sativum* L.)

$$\Delta E = -0,110 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [-2 \times 96490 \text{ (JV}^{-1}\text{mol}^{-1}) \times -0,110 \text{ (V)}] / 2,3 \times 8,314 \text{ (Jmol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \times 298 \text{ (K)}$$

$$\log C^i / C^o = 21227,8 / 5698,42 = 3,73$$

$$C^i / C^o = 10^{3,73} = 5370,3 \Rightarrow C^i = 5370,3 \times C^o \Rightarrow C^i = 5370,3 \times 1 \Rightarrow \mathbf{C^i = 5370,3}$$

Aveia (*Avena sativa* L.)

$$\Delta E = -0,084 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [-2 \times 96490 \text{ (JV}^{-1}\text{mol}^{-1}) \times -0,084 \text{ (V)}] / 2,3 \times 8,314 \text{ (Jmol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \times 298 \text{ (K)}$$

$$\log C^i / C^o = 16210,32 / 5698,42 = 2,84$$

$$C^i / C^o = 10^{2,84} = 691,8 \Rightarrow C^i = 691,8 \times C^o \Rightarrow C^i = 691,8 \times 1 \Rightarrow \mathbf{C^i = 691,8}$$

Nitrato (NO₃⁻):

Ervilheira (*Pisum sativum* L.)

$$\Delta E = -0,110 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [(-1) \times 96490 \text{ (JV}^{-1}\text{mol}^{-1}) \times -0,110 \text{ (V)}] / 2,3 \times 8,314 \text{ (Jmol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \times 298 \text{ (K)}$$

$$\log C^i / C^o = -10613,9 / 5698,42 = -1,86$$

$$C^i / C^o = 10^{-1,86} = 0,0138 \Rightarrow C^i = 0,0138 \times C^o \Rightarrow C^i = 0,0138 \times 2 \Rightarrow \mathbf{C^i = 0,0276}$$

Aveia (*Avena sativa* L.)

$$\Delta E = -0,084 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [(-1) \times 96490(\text{JV-1mol-1}) \times -0,084(\text{V})] / 2,3 \times 8,314 (\text{Jmol-1 K-1}) \times 298 (\text{K})$$

$$\log C^i / C^o = -8105,16 / 5698,42 = -1,42$$

$$C^i / C^o = 10^{-1,42} = 0,038 \Rightarrow C^i = 0,038 \times C^o \Rightarrow C^i = 0,038 \times 2 \Rightarrow \mathbf{C^i = 0,076}$$

Fosfato (H_2PO_4^-):

Ervilheira (*Pisum sativum* L.)

$$\Delta E = -0,110 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [(-1) \times 96490(\text{JV-1mol-1}) \times -0,110(\text{V})] / 2,3 \times 8,314 (\text{Jmol-1 K-1}) \times 298 (\text{K})$$

$$\log C^i / C^o = -10613,9 / 5698,42 = -1,86$$

$$C^i / C^o = 10^{-1,86} = 0,0138 \Rightarrow C^i = 0,0138 \times C^o \Rightarrow C^i = 0,0138 \times 1 \Rightarrow \mathbf{C^i = 0,0138}$$

Aveia (*Avena sativa* L.)

$$\Delta E = -0,084 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [(-1) \times 96490(\text{JV-1mol-1}) \times -0,084(\text{V})] / 2,3 \times 8,314 (\text{Jmol-1 K-1}) \times 298 (\text{K})$$

$$\log C^i / C^o = -8105,16 / 5698,42 = -1,42$$

$$C^i / C^o = 10^{-1,42} = 0,038 \Rightarrow C^i = 0,038 \times C^o \Rightarrow C^i = 0,038 \times 1 \Rightarrow \mathbf{C^i = 0,038}$$

Sulfato (SO_4^{2-}):

Ervilheira (*Pisum sativum* L.)

$$\Delta E = -0,110 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [(-2) \times 96490(\text{JV-1mol-1}) \times -0,110(\text{V})] / 2,3 \times 8,314(\text{Jmol-1 K-1}) \times 298 (\text{K})$$

$$\log C^i / C^o = -21227,8 / 5698,42 = -3,73$$

$$C^i / C^o = 10^{-3,73} = 0,00019 \Rightarrow C^i = 0,00019 \times C^o \Rightarrow C^i = 0,00019 \times 0,25 \Rightarrow \mathbf{C^i = 0,000048}$$

Aveia (*Avena sativa* L.)

$$\Delta E = -0,084 \text{ V}$$

$$\log C^i / C^o = [(-2) \times 96490(\text{JV-1mol-1}) \times -0,084(\text{V})] / 2,3 \times 8,314(\text{Jmol-1 K-1}) \times 298 (\text{K})$$

$$\log C^i / C^o = -16210,32 / 5698,42 = -2,84$$

$$C^i / C^o = 10^{-2,84} = 0,0014 \Rightarrow C^i = 0,0014 \times C^o \Rightarrow C^i = 0,0014 \times 0,25 \Rightarrow \mathbf{C^i = 0,00036}$$