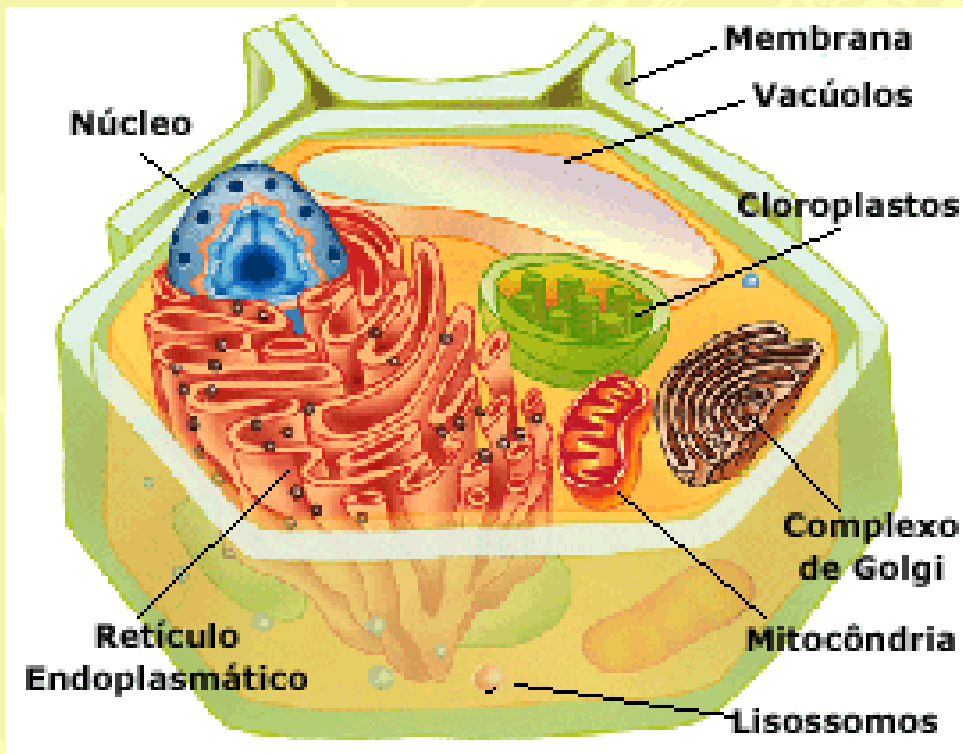




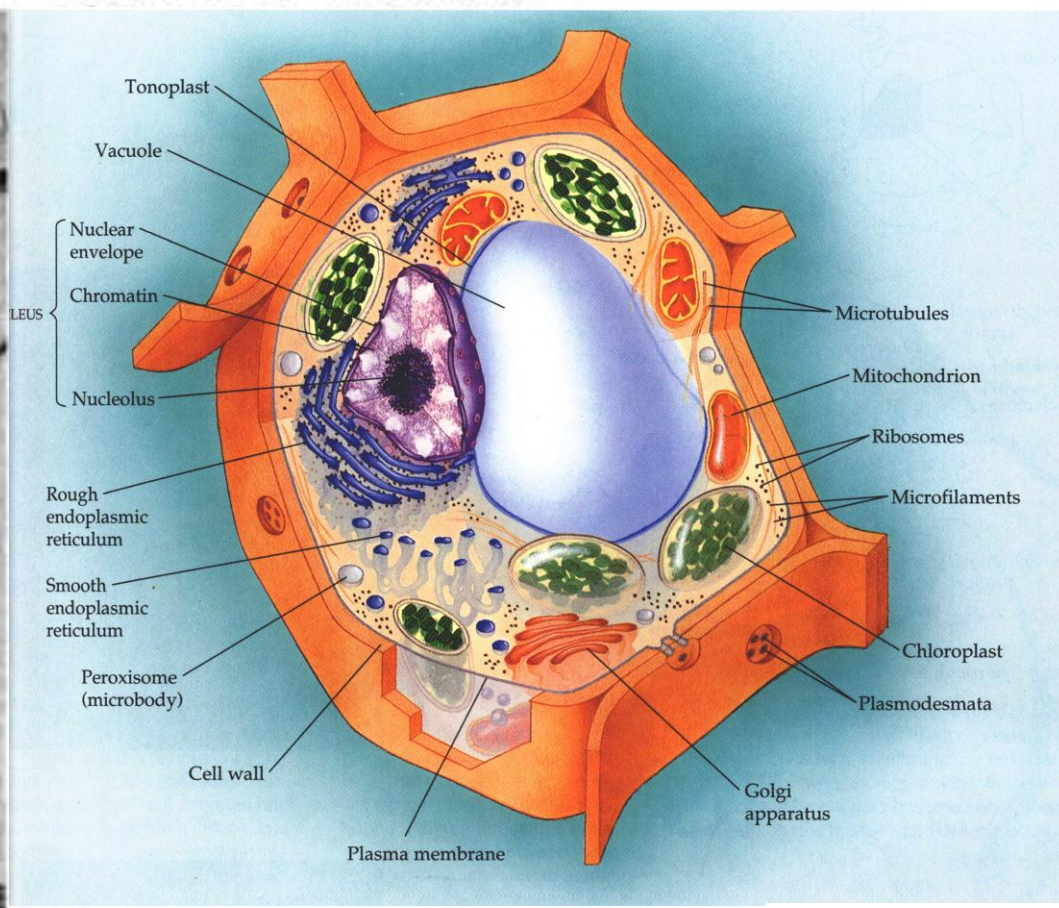
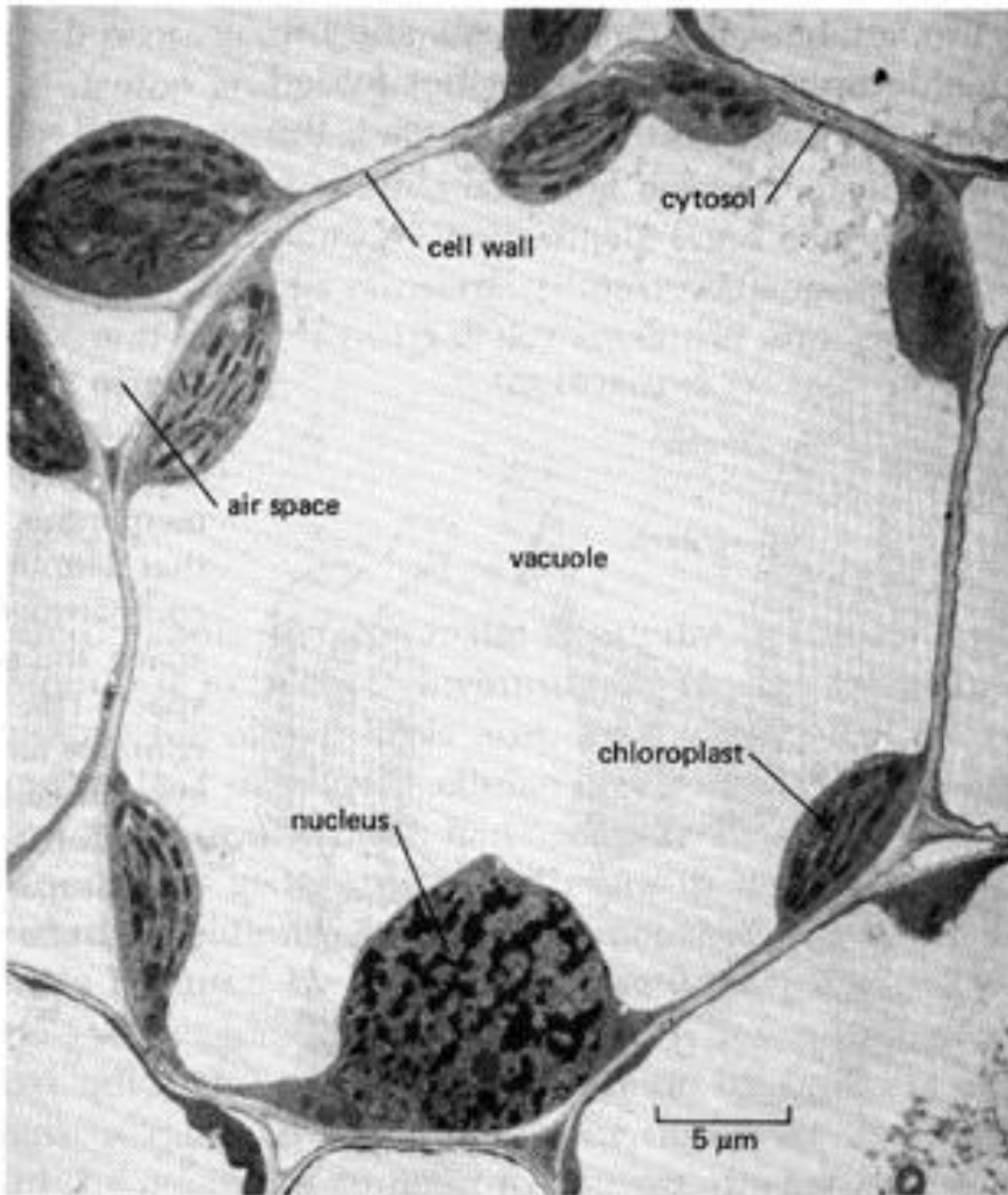
Membranas Plasmáticas e Papéis na Resistência contra Doenças de Plantas

CÉLULA, oficina da vida



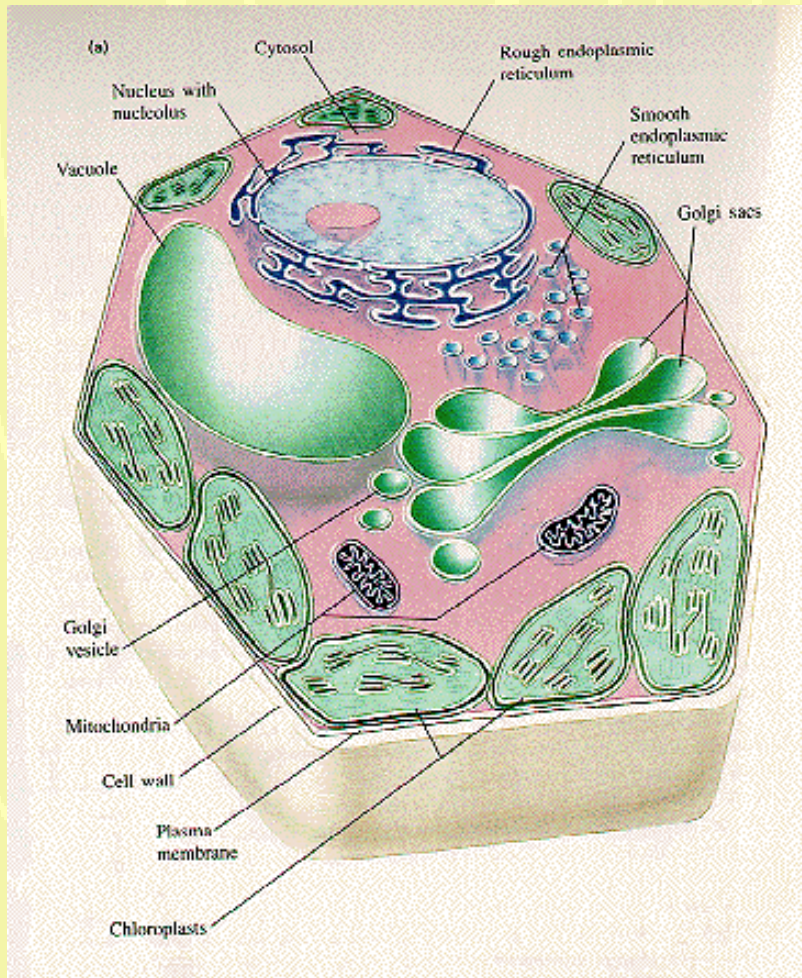
ESTRUTURA DA CÉLULA

Não há vida sem as células. Esses pequenos compartimentos, limitados por uma membrana e preenchidos por uma substância aquosa repleta de compostos químicos (o citoplasma), desempenham em miniatura todas as funções vitais. A célula move-se, cresce, reage a estímulos, defende-se e se reproduz.



Nossa proposta é ver a célula como uma estrutura dinâmica: um labirinto ocupado por água, onde as reações ocorrem de forma organizada, eficiente e econômica. A célula é a menor estrutura capaz de executar todas as atividades que caracterizam os seres vivos.

Como se estrutura a célula ?



A **CÉLULA EUCARIÓTICA**, constituindo um espaço fortemente compartimentado e parcialmente resultante da privatização do meio externo, oferece condições para a instalação de uma **RIGOROSA COMPARTIMENTAÇÃO DE FUNÇÕES**.

Desta compartimentação decorre implicitamente a especialização de certas regiões ou estruturas para o desempenho de funções determinadas.

O elemento construtor de toda célula, é a **MEMBRANA**: é ela que delimita a célula do meio exterior e, portanto separa de forma inequívoca o espaço vivo (organizado) e espaço não vivo (desorganizado); é ela que delimita os compartimentos e define o próprio núcleo. É ainda através das membranas que nos organismos, as células se justapõem para constituir os tecidos e estes, os órgãos.

A membrana como elemento estruturante da célula



De acordo com a concepção de célula eucariótica que se acaba de expor, o espaço próprio de uma célula eucariótica é compartimentado em duas fases distintas, separadas por uma membrana.

A membrana plasmática: Funções

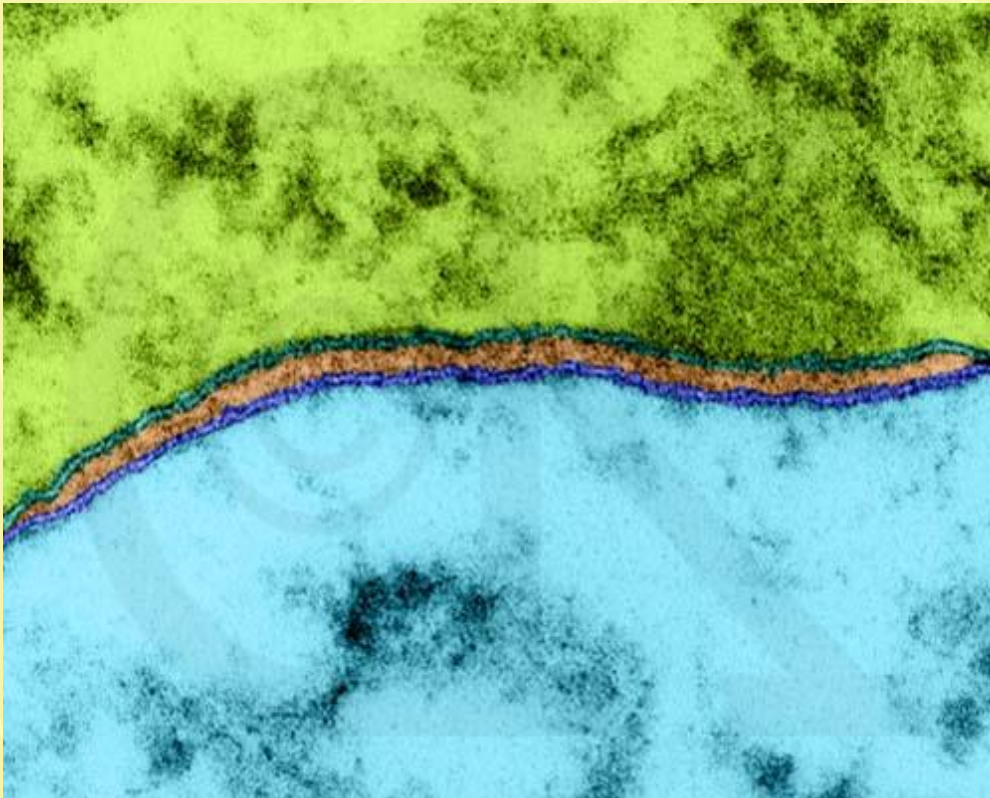


A manutenção da individualidade celular, assim como o bom desempenho das outras funções da membrana, requerem uma combinação particular de características estruturais da membrana plasmática: ao mesmo tempo que a membrana precisa formar um limite “estável”, ela precisa também ser dinâmica e flexível. A combinação destas características é possível devido à sua **COMPOSIÇÃO QUÍMICA**.



Composição Química

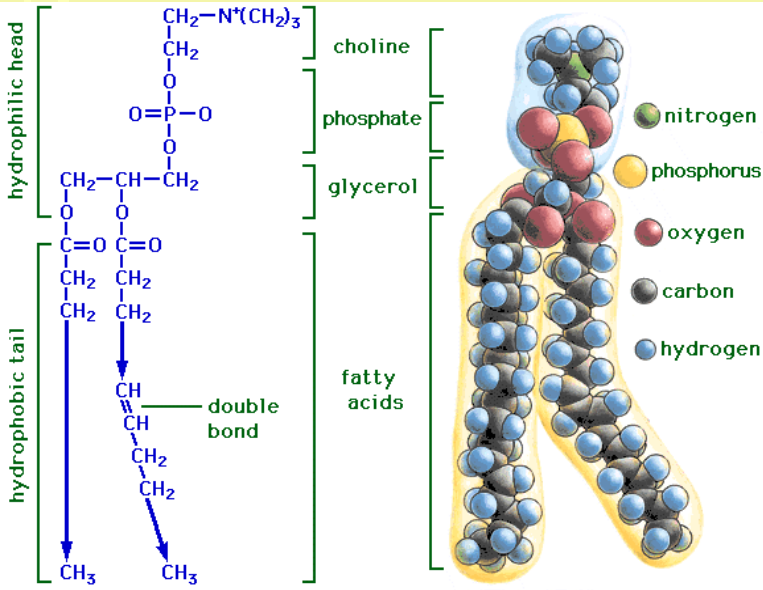
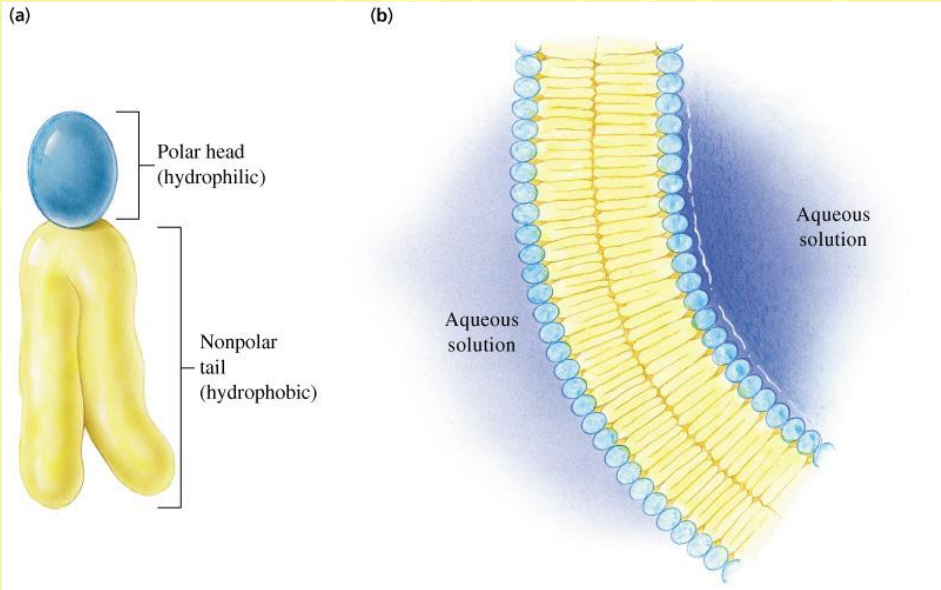
A membrana plasmática: Composição química



As membranas celulares consistem de uma dupla camada contínua de lipídios, com a qual as proteínas e carboidratos das mais diversas naturezas interagem de diversas maneiras.

Pode-se dizer que os lipídios são os componentes que compõem a estrutura básica da membrana plasmática. Existem 3 grandes classes de lipídios que compõem a membrana: FOSFOLÍPIDIOS, ESTERÓIDES e GLICOLÍPIDIOS, sendo que os fosfolipídios são os mais abundantes.

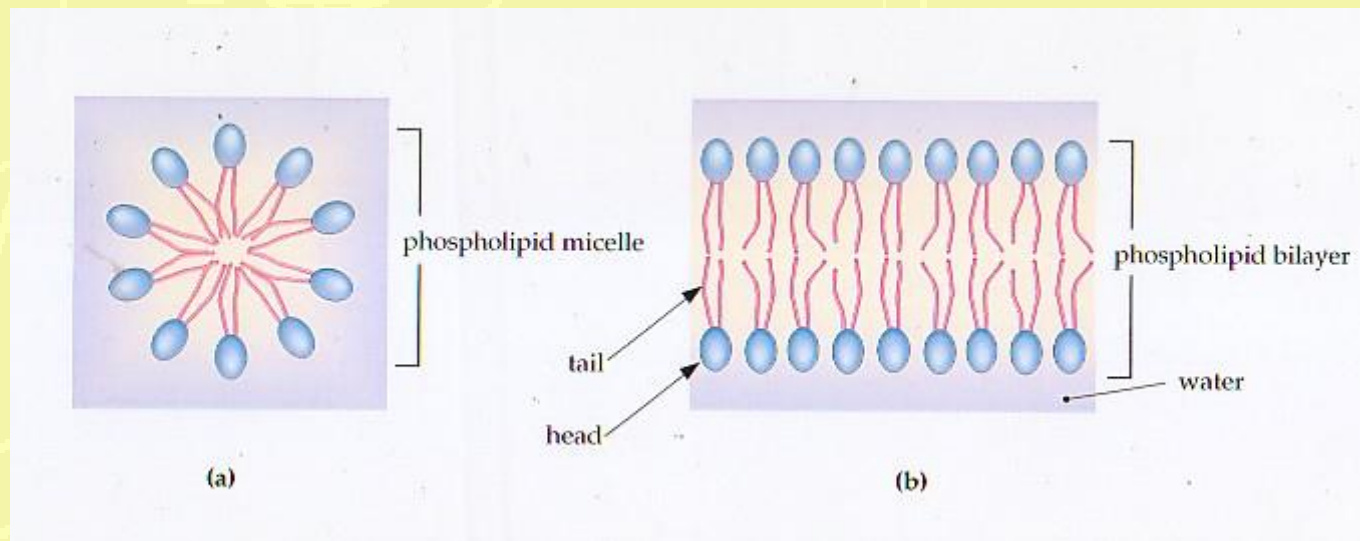
Membrana plasmática



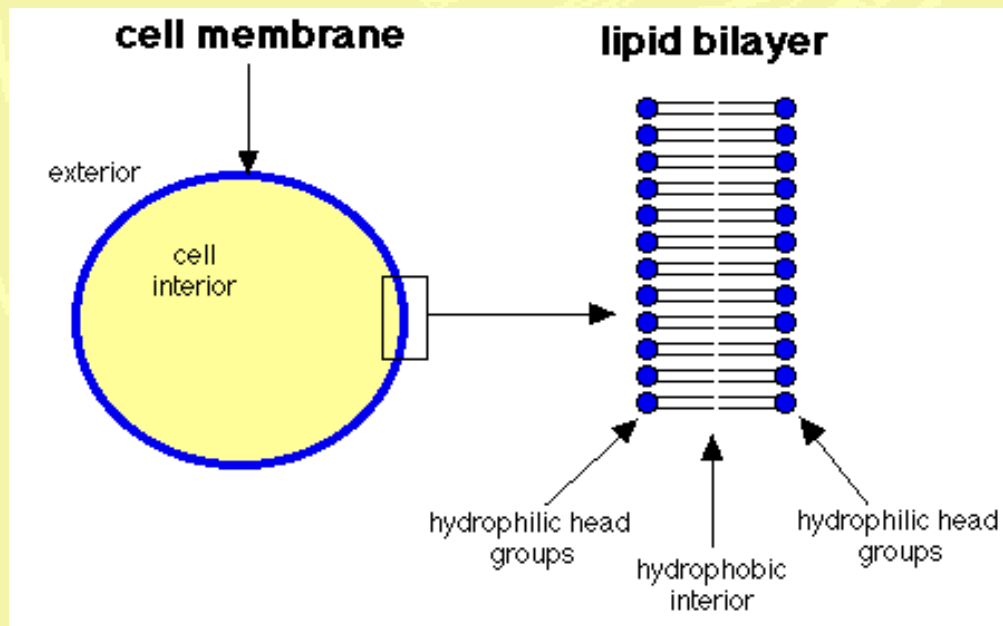
A membrana plasmática: Composição química



A molécula de lipídio possui uma característica bioquímica essencial para formar uma bicamada estável, ainda que fluida. Ela possui uma região hidrofílica e caudas hidrofóbicas. Enquanto que a região hidrofílica interage bem com a água, altamente abundante nos meios intra e extracelular, a região hidrofóbica busca “esconder-se” da água.



A membrana plasmática: Composição química

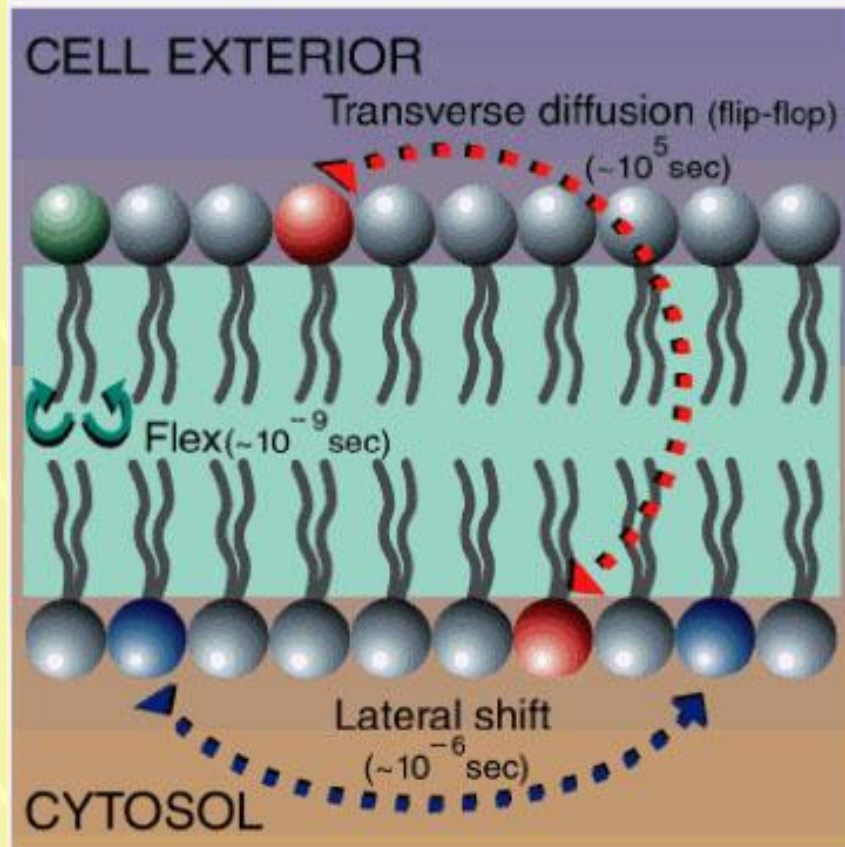


A intenção natural desta molécula anfipática de atingir um estado que seja energeticamente estável e termodinamicamente favorável, faz com que elas arranjam-se na forma de uma bicamada. A estabilidade é, então, dada pela necessidade termodinâmica do próprio lipídio em manter suas regiões hidrofílica e hidrofóbica em posições adequadas em relação à água. Desta forma, se a bicamada lipídica sofre um dano, onde algumas moléculas são removidas, sua tendência natural é a de se regenerar.

A membrana plasmática: Composição química



Lipid Movement



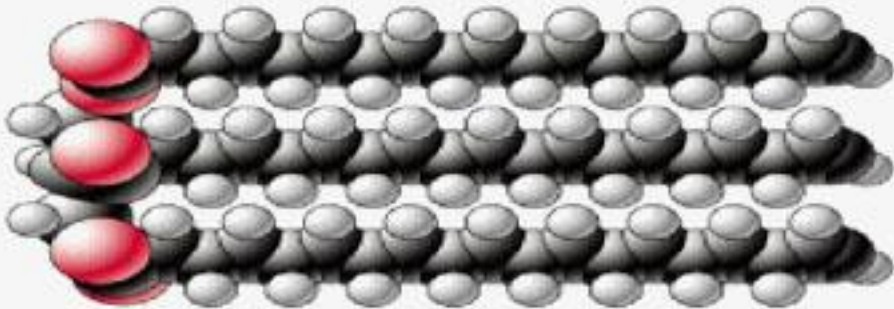
Os lipídios distribuem-se assimetricamente nas duas monocamadas lipídicas e estão em constante movimentação. Eles movem-se ao longo do seu próprio eixo, num movimento chamado rotacional (10^{-9} s) e movem-se lateralmente ao longo da extensão da camada (10^{-6} s). Estes dois movimentos não representam qualquer alteração à termodinâmica natural da membrana e, portanto, ocorrem constantemente.

Um outro movimento chamado FLIP-FLOP (10^{-5} s), que consiste em mudar de uma monocamada à outra, é menos freqüente, pois envolve a passagem da cabeça polar dentro da região apolar da bicamada.

A membrana plasmática: Composição química

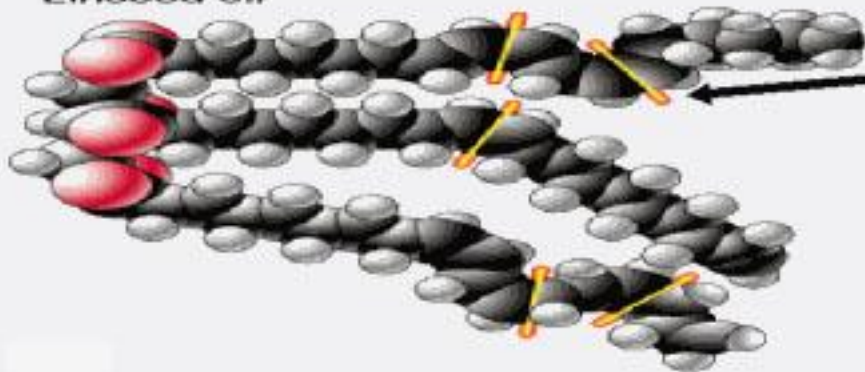


Tristearate



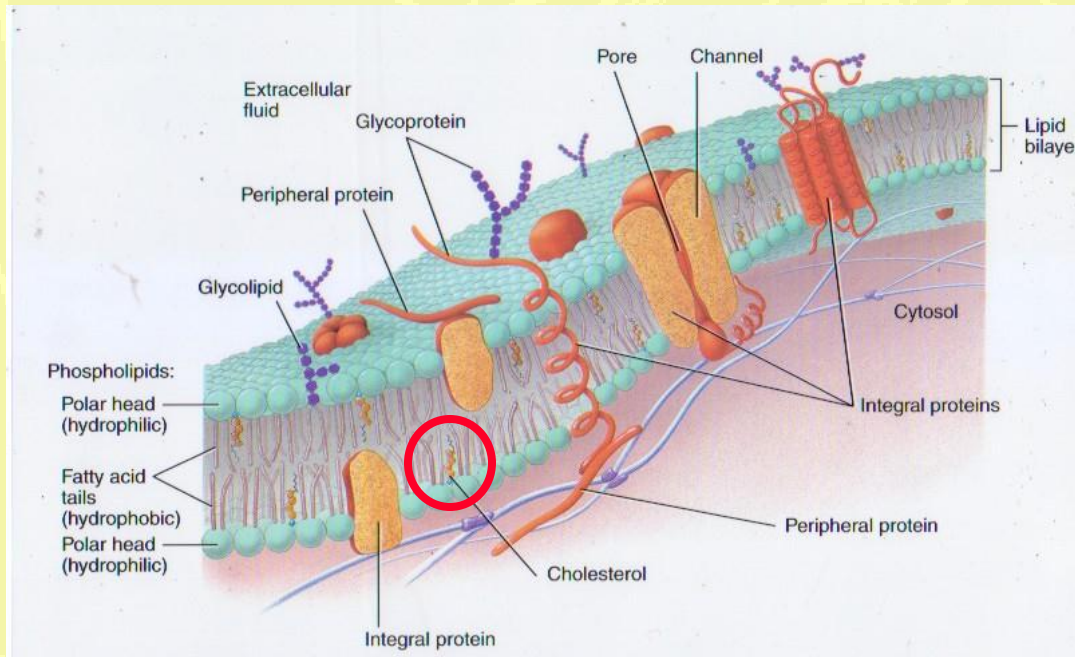
A fluidez da membrana é controlada por diversos fatores físicos e químicos. A temperatura influencia na fluidez: quanto mais alta ou baixa, mais ou menos fluida será a membrana, respectivamente. O número de duplas ligações nas caudas hidrofóbicas dos lipídios também influencia a fluidez: quanto maior o número de insaturações, mais fluida a membrana pois menor será a possibilidade de interação entre moléculas vizinhas.

Linseed oil



Double bonds

A membrana plasmática: Composição química

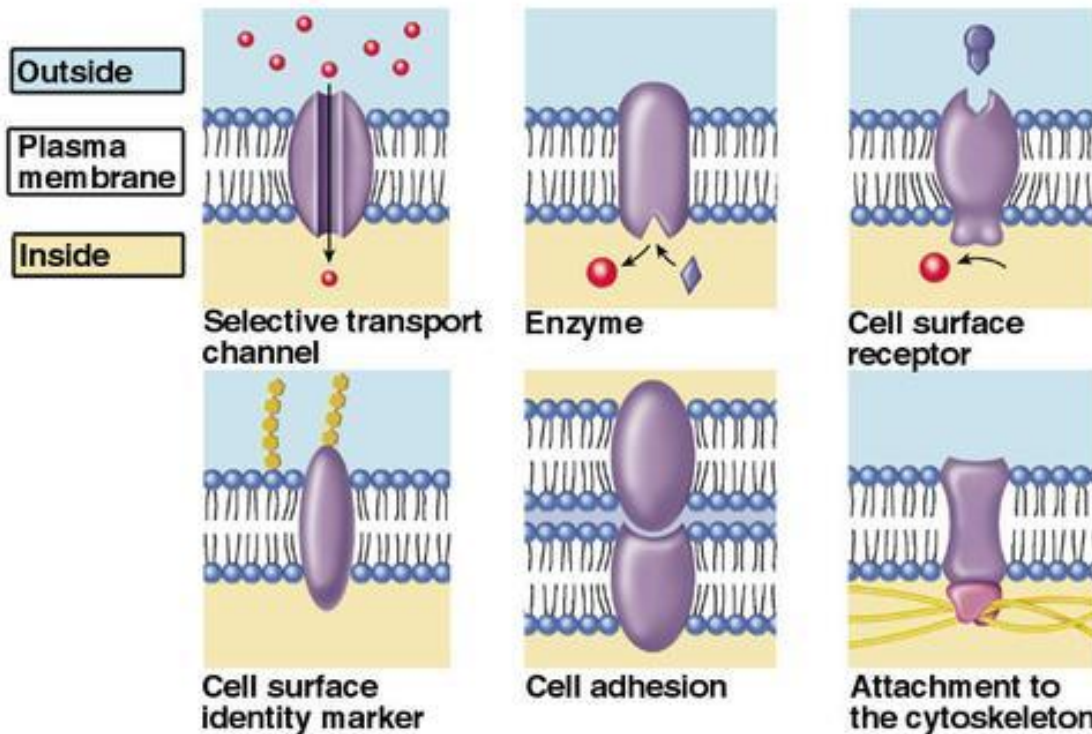


Também a concentração de colesterol influencia na fluidez: quanto mais colesterol, menos fluida. O colesterol, por ser menor e mais rígido, interage mais fortemente com os lipídios adjacentes, diminuindo sua capacidade de movimentação.

A membrana plasmática: Composição química

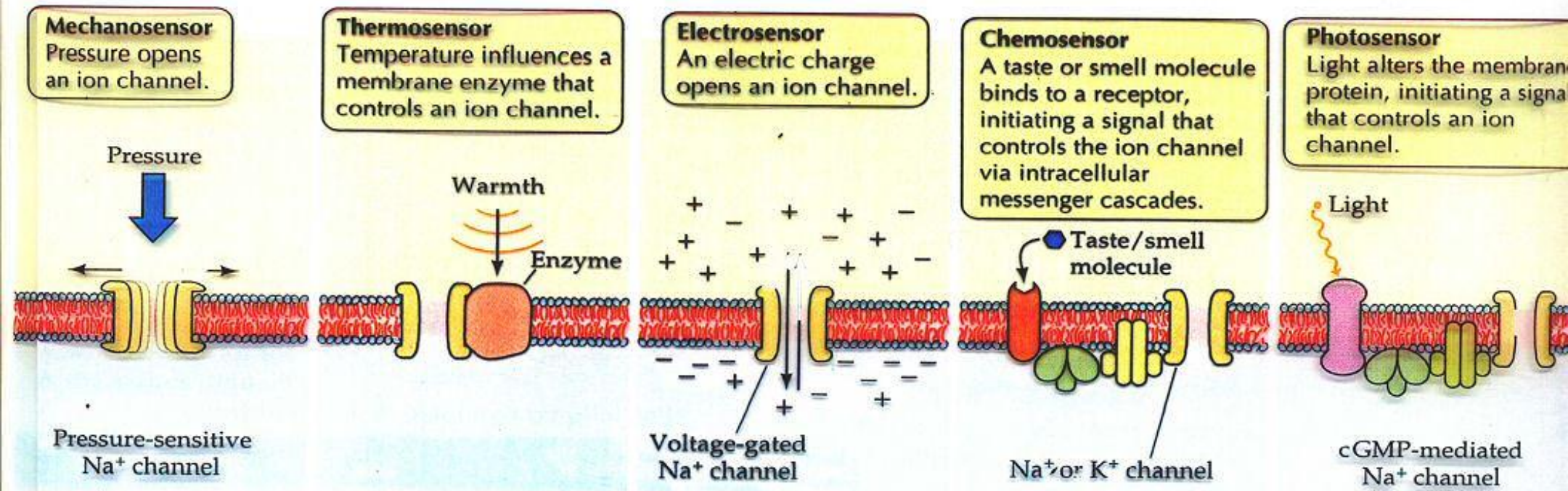


Functions of Plasma Membrane Proteins



Inúmeras funções são desempenhadas pelas proteínas de membranas: elas comunicam célula e meio extracelular, servindo como poros e canais, controlam o transporte iônico, servem como transportadoras, realizam atividade enzimática.

Proteínas de turgor - Sinalizador na raiz ?



KARP, 1996



Estrutura

A membrana plasmática: estrutura



1904: NATHANSON e OVERTON - As membranas celulares são feitas de lipídios;

1925: GORTER e GREDEL - As membranas de glóbulos vermelhos são feitas de uma camada dupla de lipídios;

1935: DANIELLI e DAVSON - uma bicamada contínua de moléculas lipídicas, à qual se associavam proteínas, numa e noutra face;

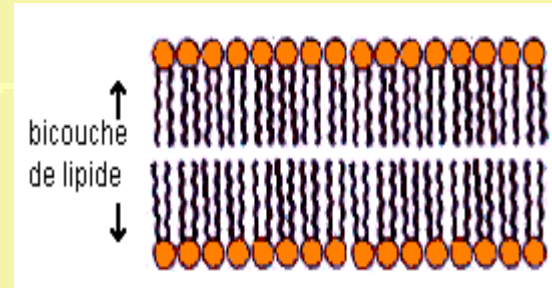
1957: J.DAVID ROBERTSON - As membranas constituintes das células eucarióticas são lâminas finas e deformáveis, mas mecanicamente resistentes devido à presença de proteínas. São todas estruturadas de acordo com o mesmo modelo de arquitetura molecular, ainda que possam apresentar diferentes espessuras (6-10nm).

1972: SINGER e NICHOLSON - modelo do mosaico fluído.

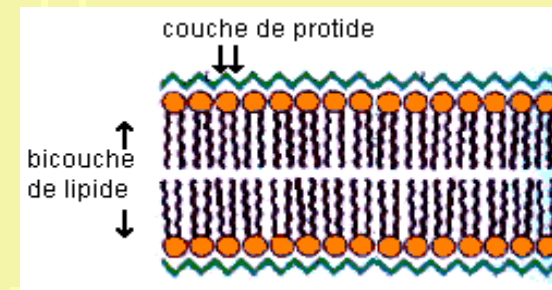
A membrana plasmática: estrutura



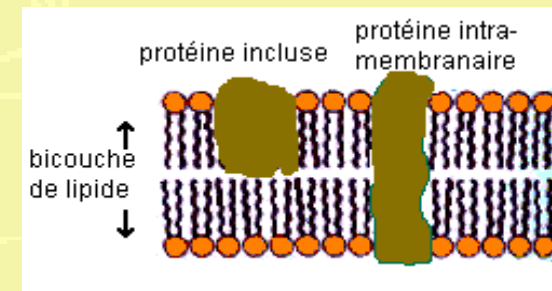
1925: GORTER e GRENDEL



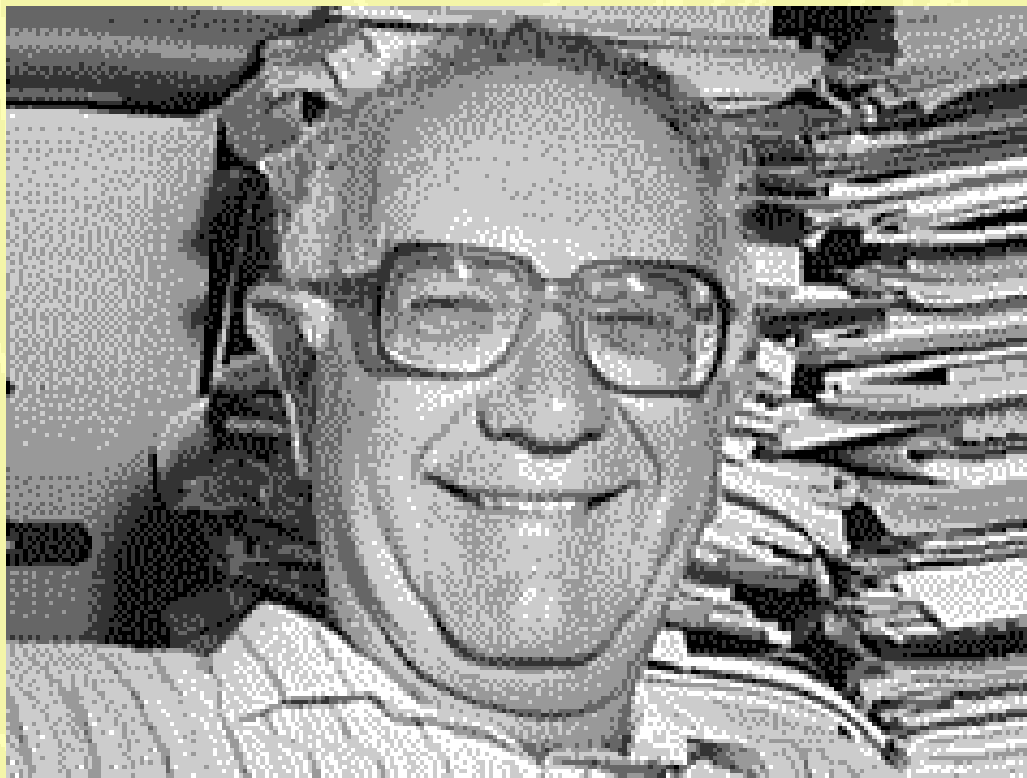
1935: DANIELLI e DAVSON



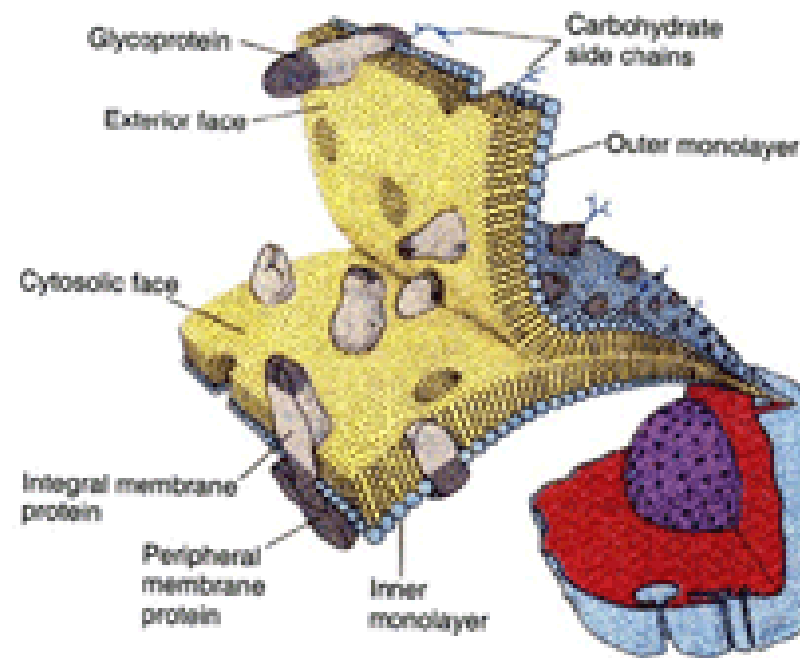
1972: SINGER e NICHOLSON



A membrana plasmática: estrutura



JONATHAN SINGER



CRIOFRATURA ELETRÔNICA

**Extracellular
Fluid**

Glycoprotein

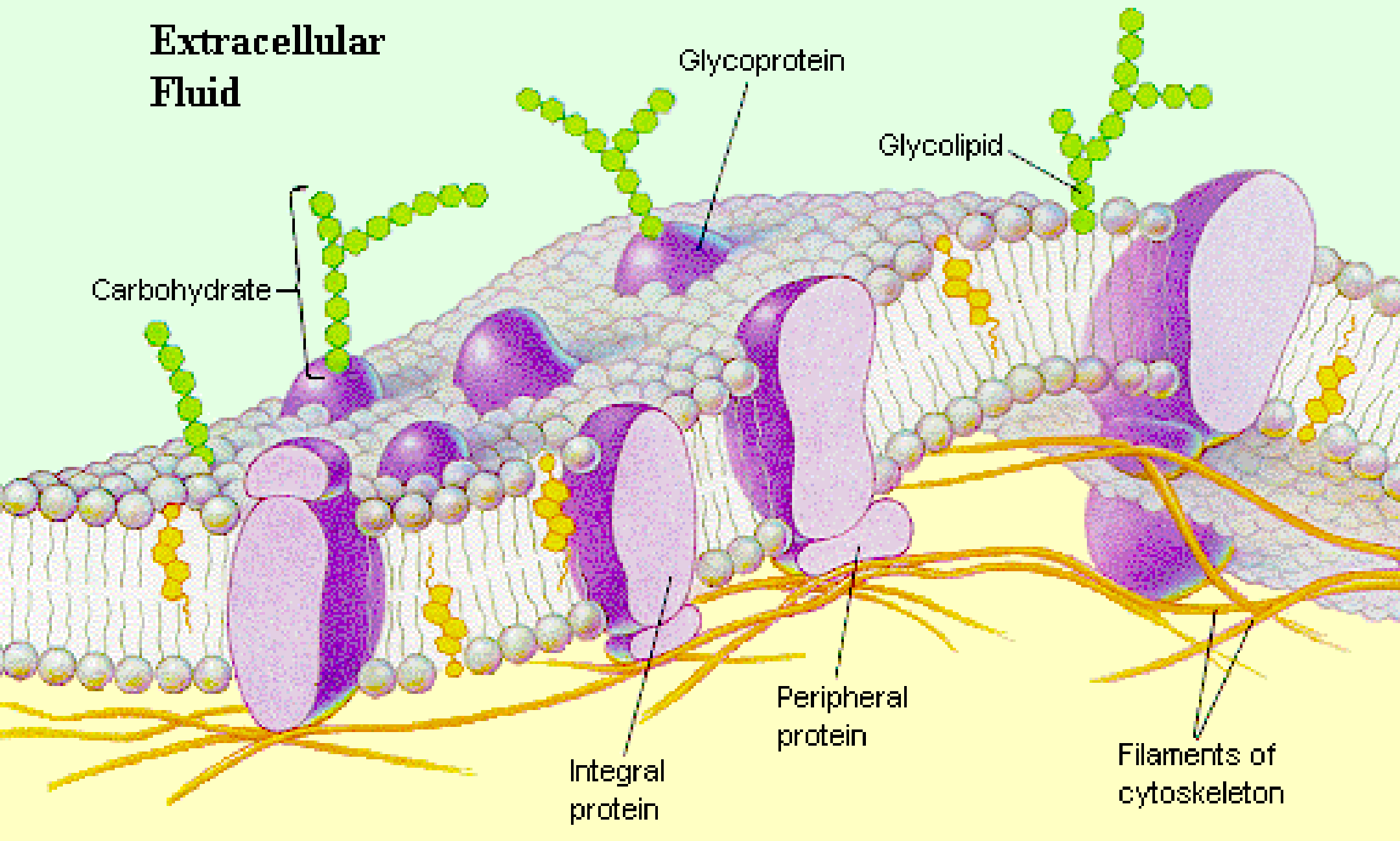
Glycolipid

Carbohydrate

Peripheral
protein

Integral
protein

Filaments of
cytoskeleton

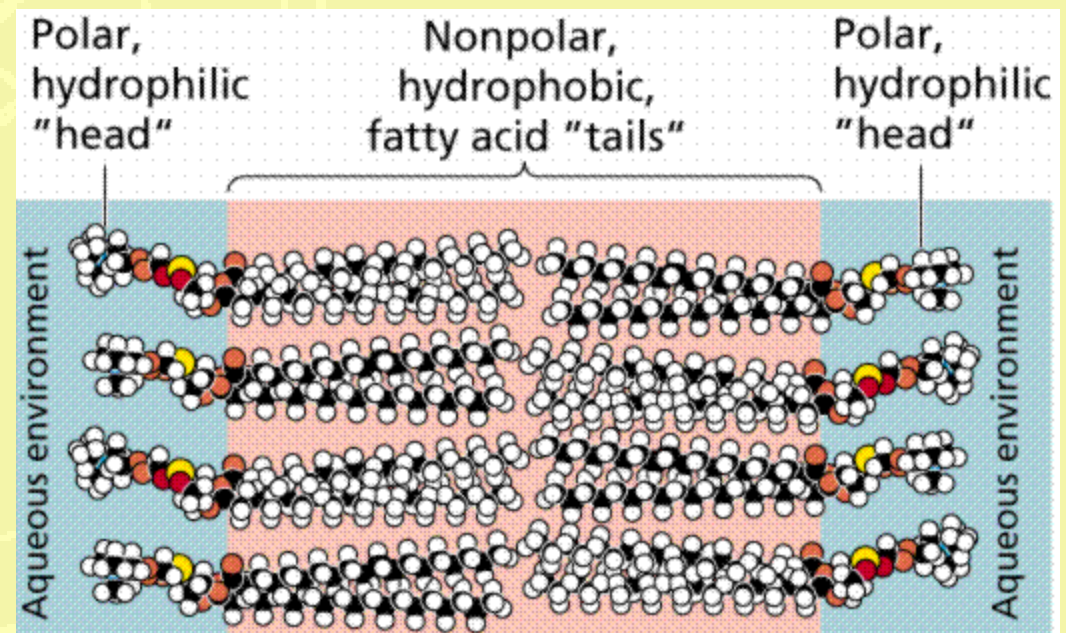


A membrana plasmática: estrutura



O arranjo dos lipídios em bicamada resulta diretamente de sua **NATUREZA ANFIPÁTICA**.

Como consequência disso, nas bicamadas lipídicas, as “cabeças” hidrofílicas das moléculas de lipídios ficam voltadas para fora e interagem com as interfaces aquosas, enquanto que as “caudas” hidrofóbicas dirigem-se uma para as outras, no interior da bicamada.

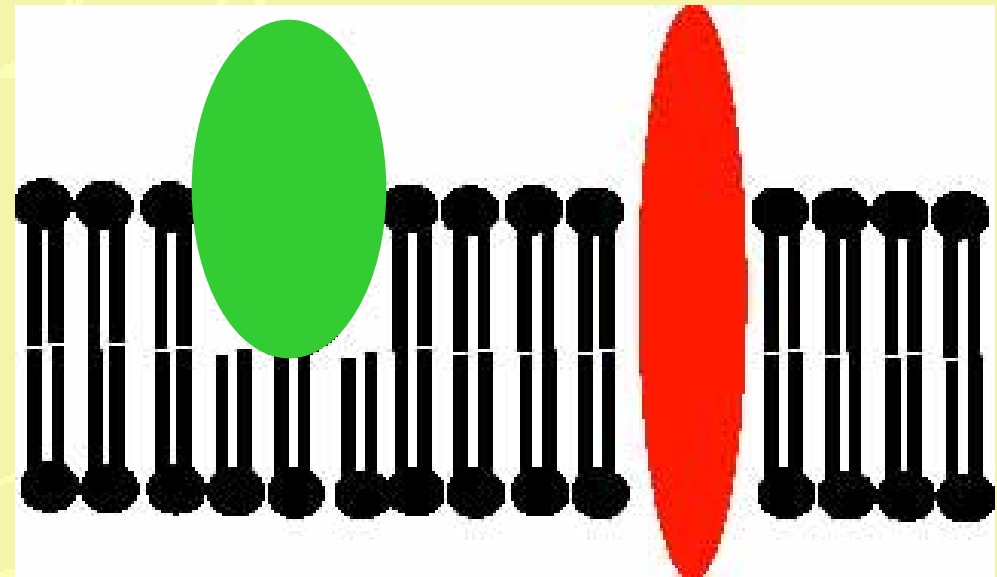


A membrana plasmática: estrutura



As proteínas, por sua vez, podem encontrar-se associadas à membrana essencialmente de duas formas distintas:

Ou encontram-se “mergulhadas” na bicamada lipídica e designam-se **PROTEÍNAS INTRÍNSECAS (INTEGRAIS ou TRANSMEMBRANAS)**, ou encontram-se aderentes a uma das faces da membrana, e designam-se então por **EXTRÍNSECAS (PERIFÉRICAS ou ANCORADAS)**



Membrana plasmática: Características principais



DUPLA;

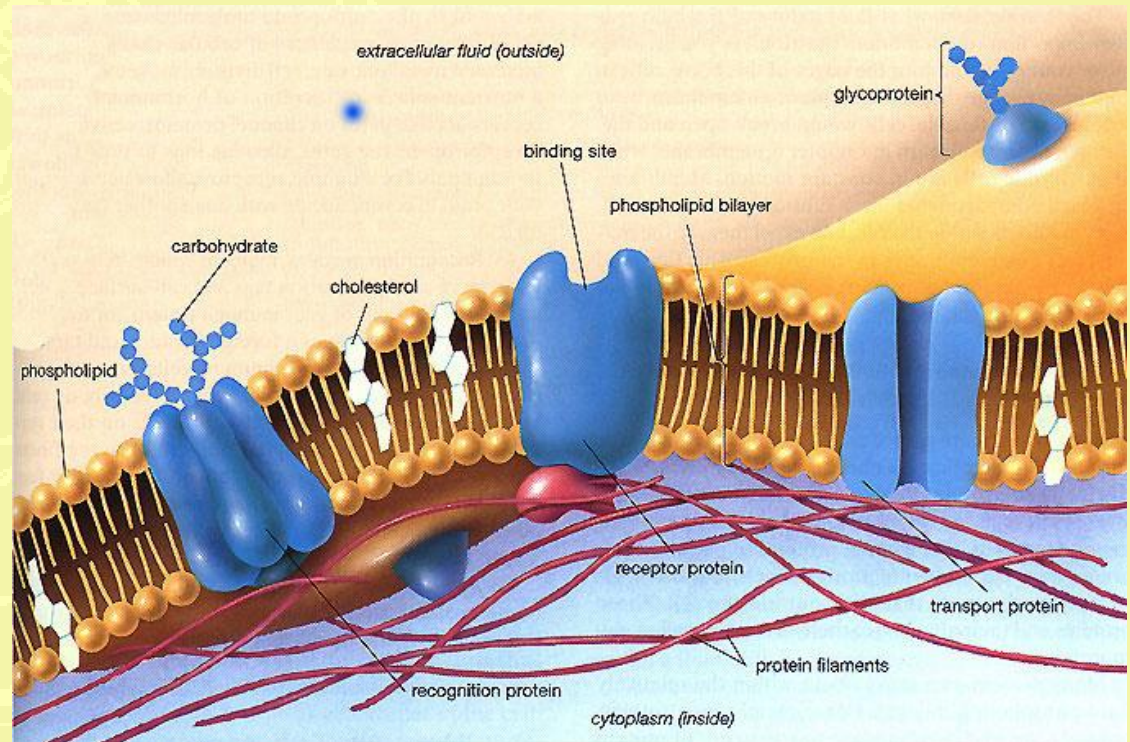
VISCOSA;

FLUIDA;

PERMEABILIDADE SELETIVA;

FLEXÍVEL;

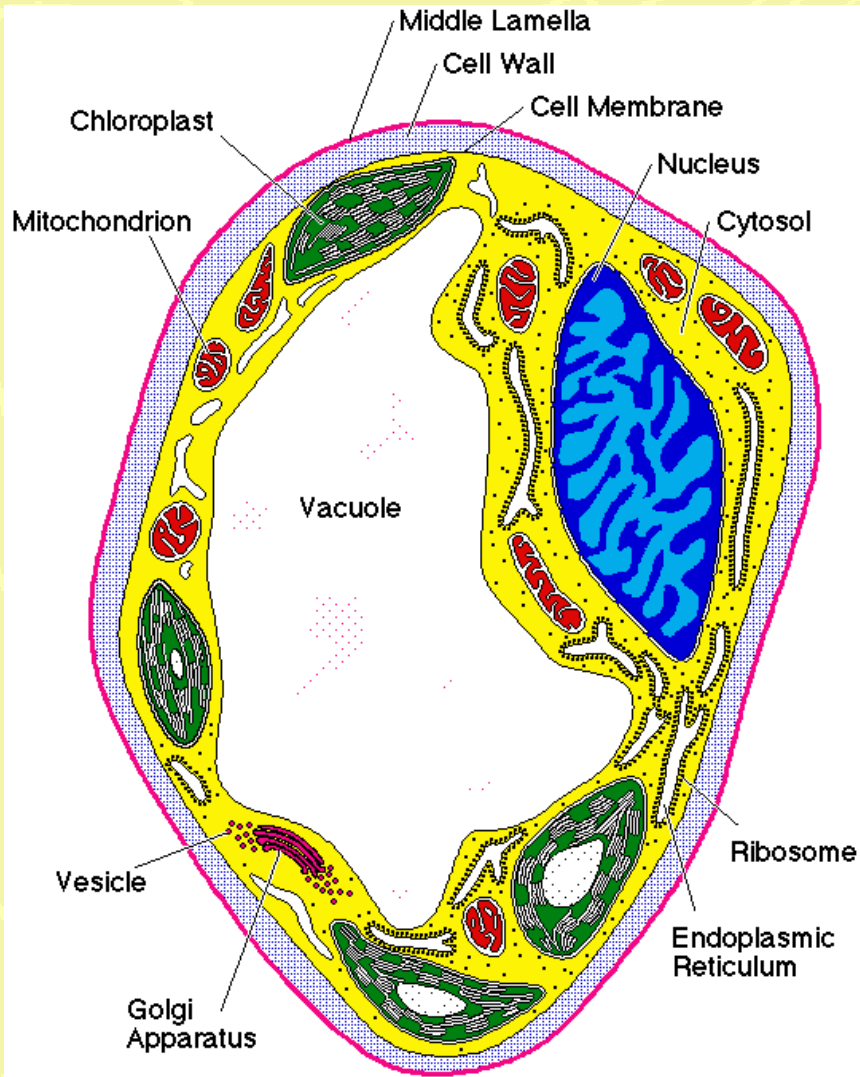
SENSORES QUÍMICOS.





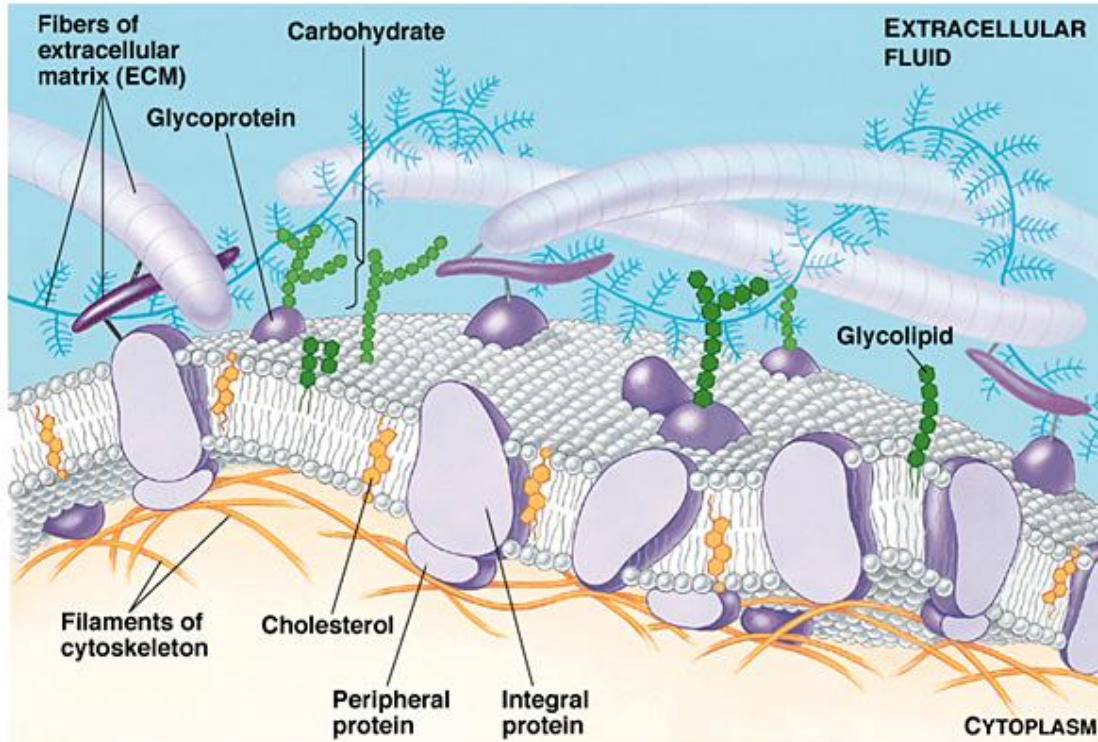
Funções

A membrana plasmática: Funções



A membrana plasmática possui uma vasta gama de funções. A primeira, do ponto de vista da própria célula é que ela dá **INDIVIDUALIDADE A CADA CÉLULA, DEFININDO MEIOS INTRA E EXTRA CELULAR**. Ela forma ambientes únicos e especializados, cuja composição e concentração molecular são consequência de sua permeabilidade seletiva e dos diversos meios de comunicação com o meio celular.

A membrana plasmática: Funções



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

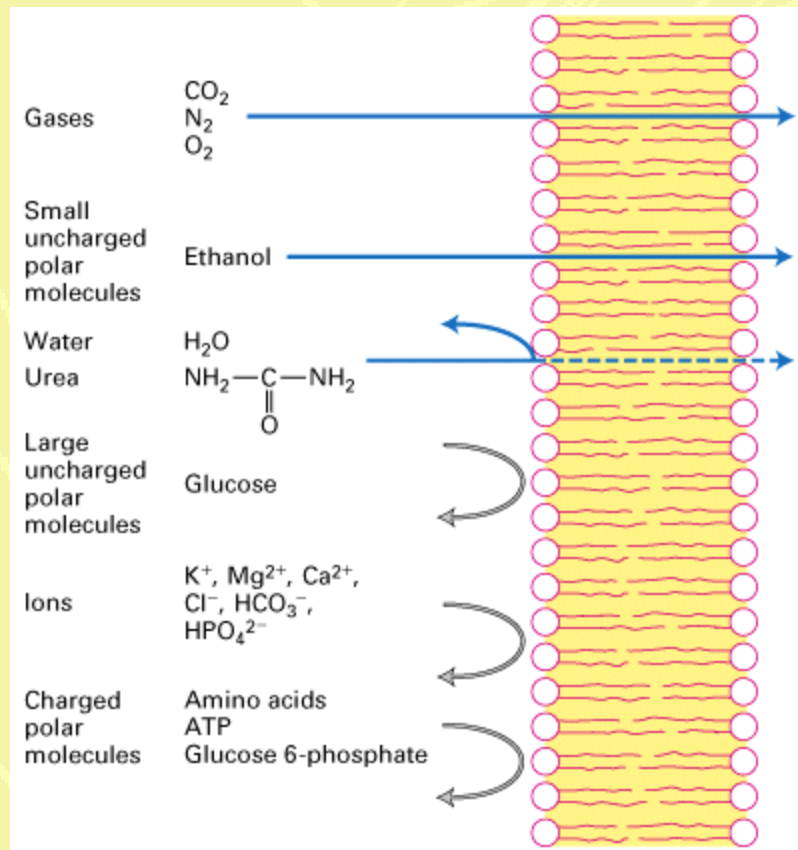
Além de delimitar o ambiente celular, compartimentalizando moléculas, A **MEMBRANA PLASMÁTICA REPRESENTA O PRIMEIRO ELO DE CONTATO ENTRE OS MEIOS INTRA E EXTRACELULAR, TRANSDUZINDO INFORMAÇÕES PARA O INTERIOR DA CÉLULA E PERMITINDO QUE ELA RESPONDA A ESTÍMULOS EXTERNOS** que podem, inclusive, influenciar no cumprimento de suas funções biológicas. Todo o funcionamento da célula assenta no intercâmbio entre as duas fases e, destas, com o exterior.

Transferência de informação e reconhecimento celular

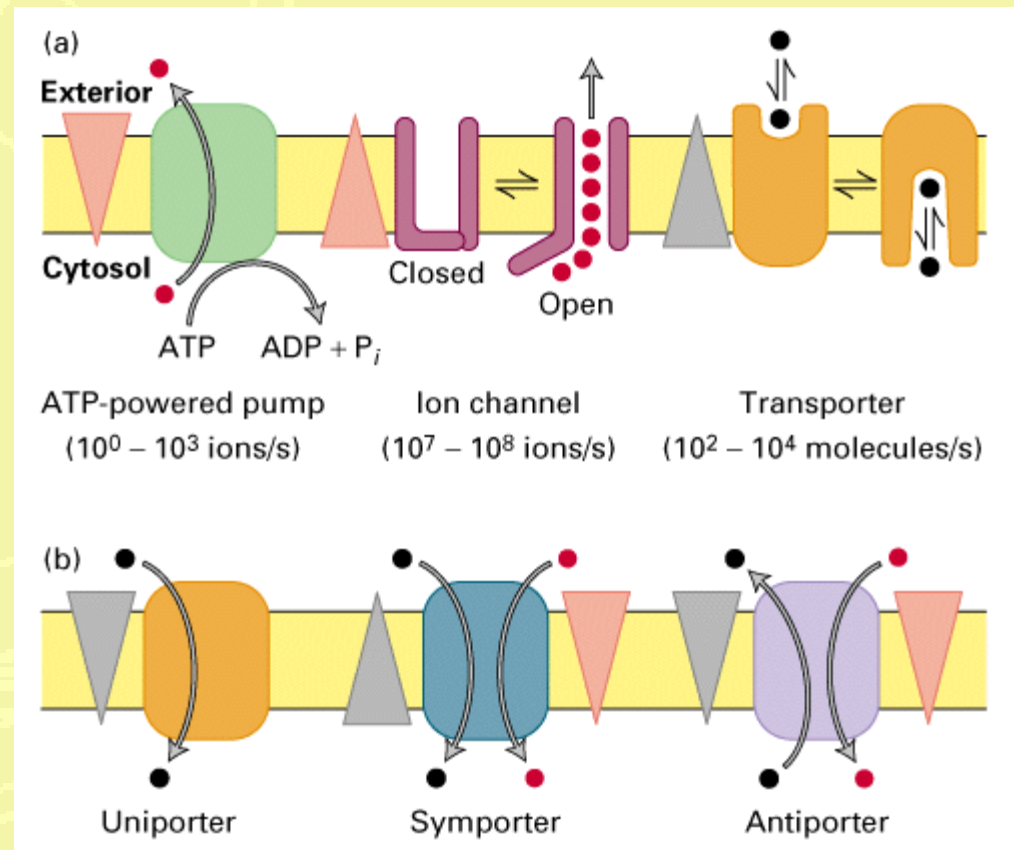
A membrana plasmática: Funções



Transporte de substâncias



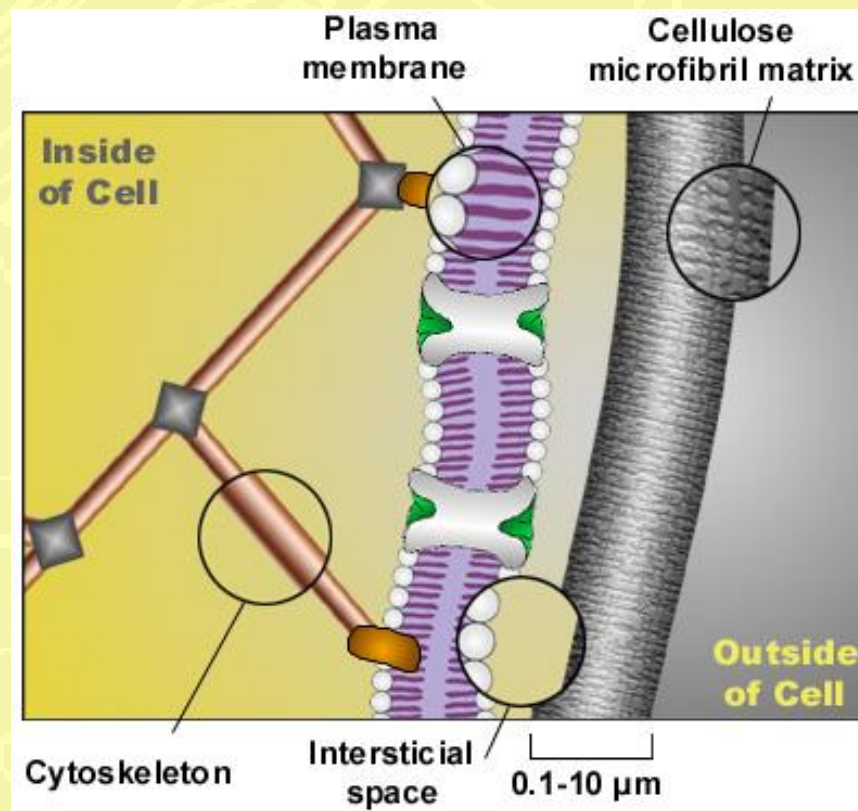
Regulação da permeabilidade seletiva



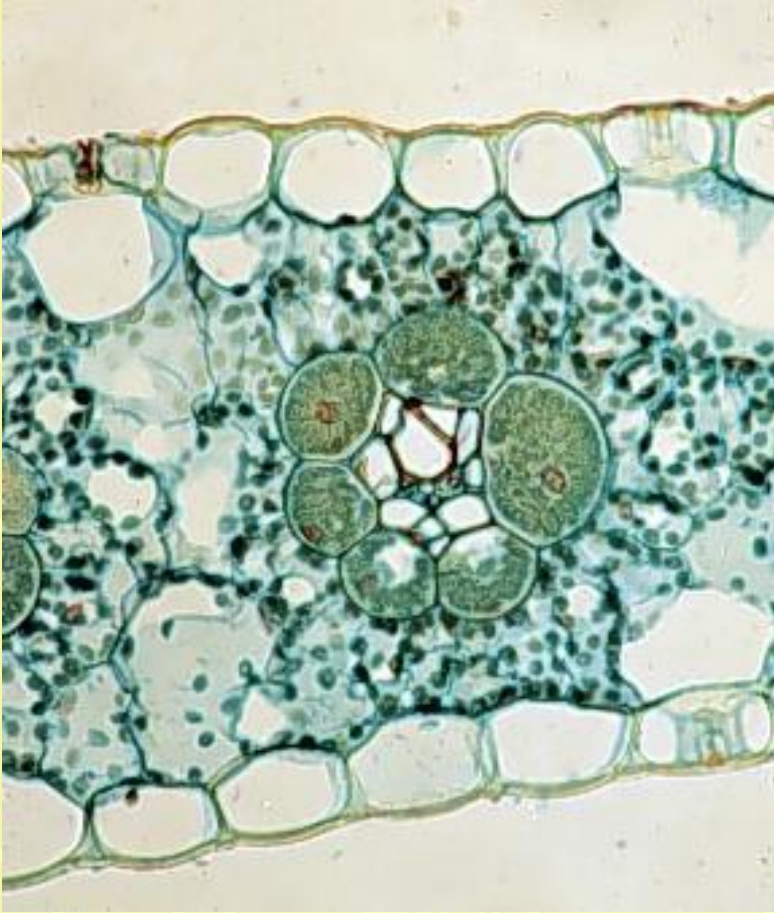
Membrana plasmática



Adesão e ligação do Citoesqueleto



A membrana plasmática: Funções



Também nas interações célula-célula e célula-matriz extracelular a membrana plasmática participa de forma decisiva. É, por exemplo, através de componentes da membrana que células semelhantes podem se reconhecer para, agrupando-se, formar tecidos.

Membrana plasmática: Funções



PETER MITCHELL
1920 - 1992

Produção de energia metabólica sob a forma de ATP

Teoria Quimiosmótica - 1961

“A energia eletroquímica inerente da diferença na concentração de prótons e da separação de cargas através da membrana mitocondrial interna dirige a síntese de ATP à medida que os prótons fluem passivamente de volta para a matriz mitocondrial através de um poro de prótons”

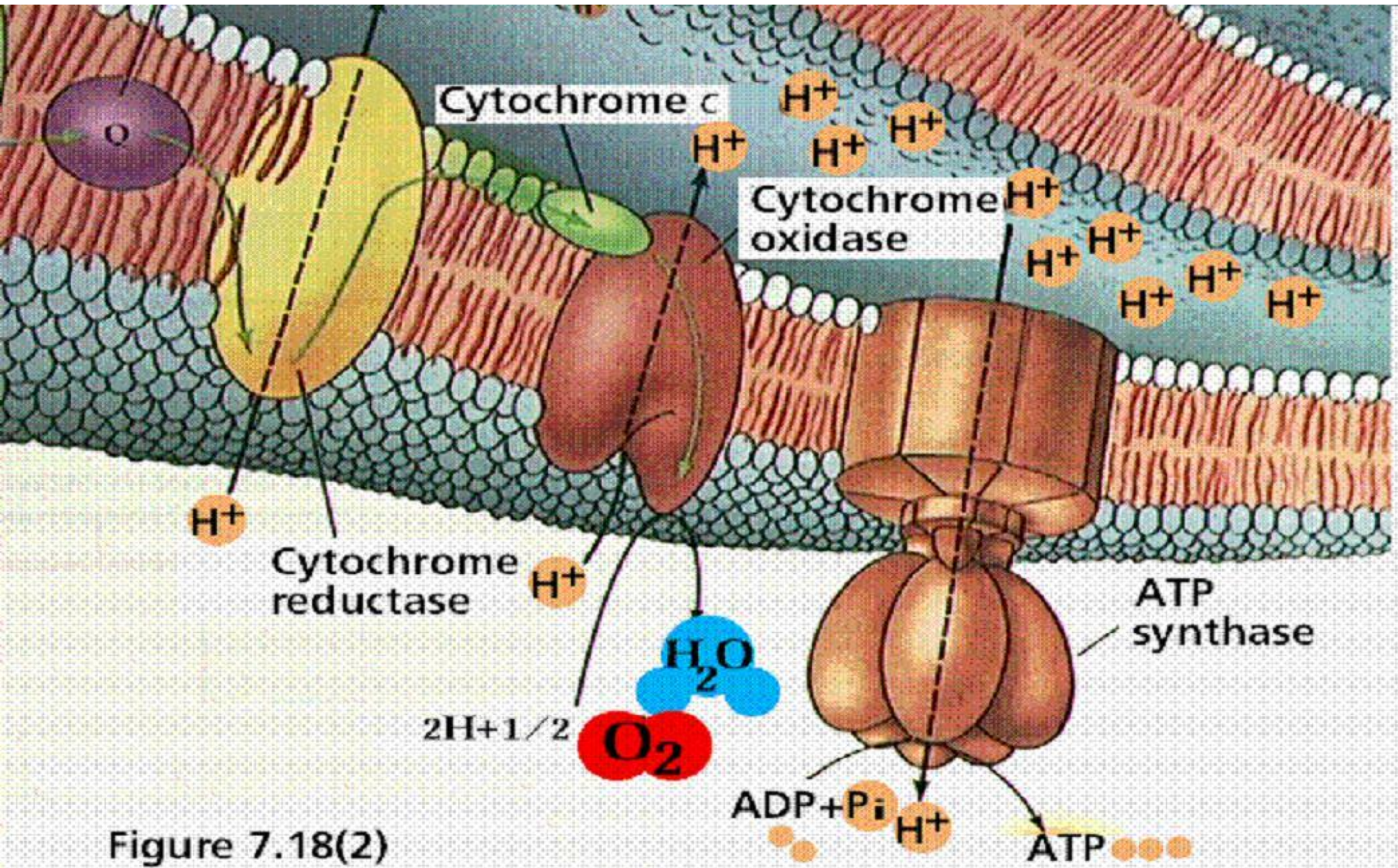
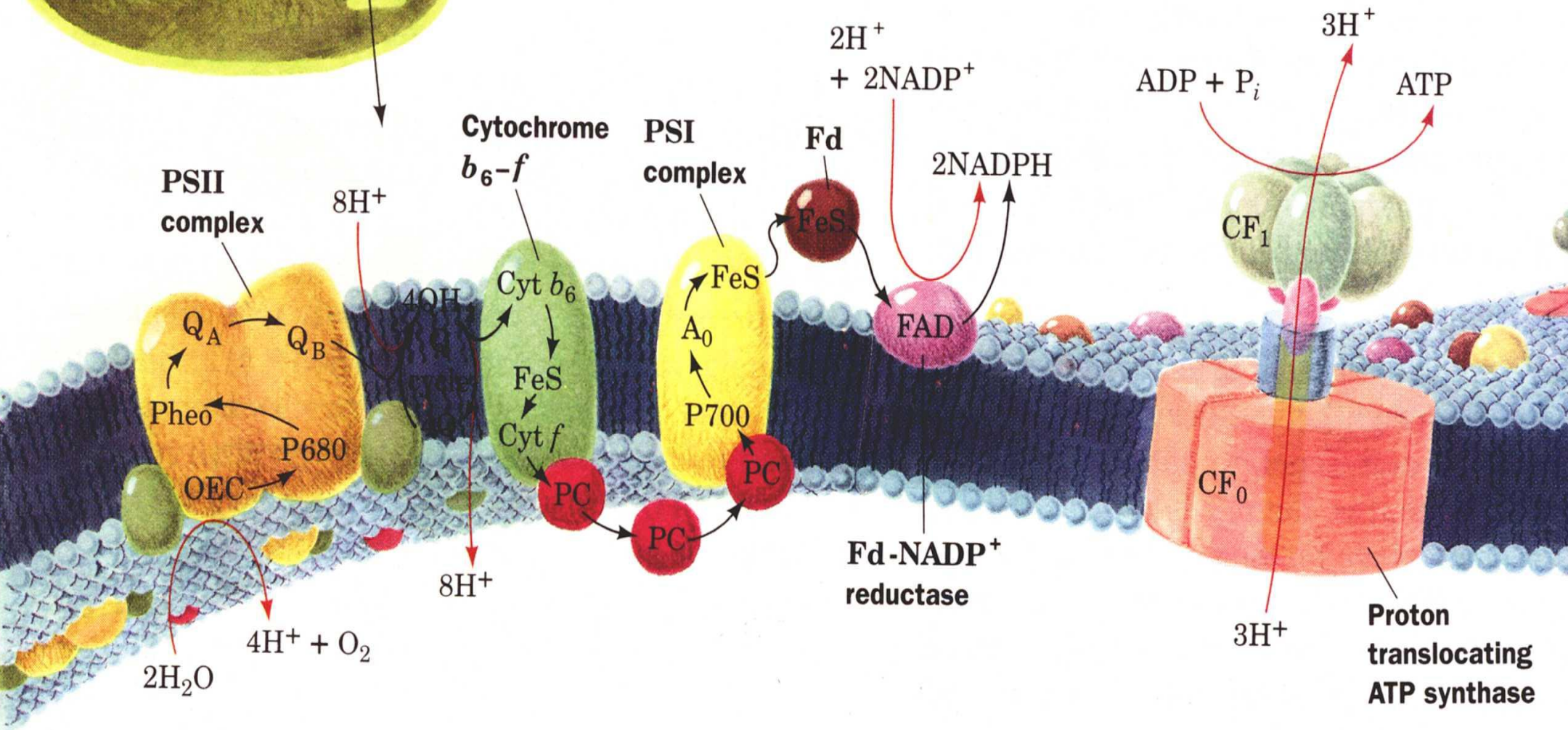
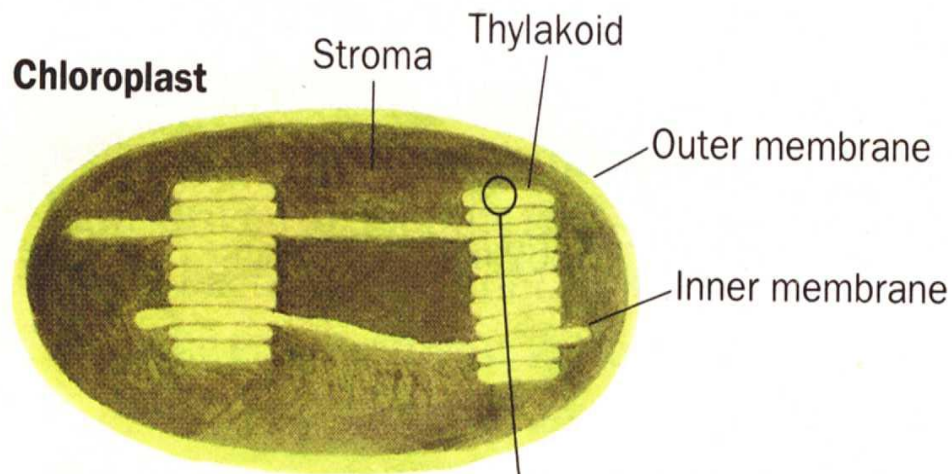


Figure 7.18(2)

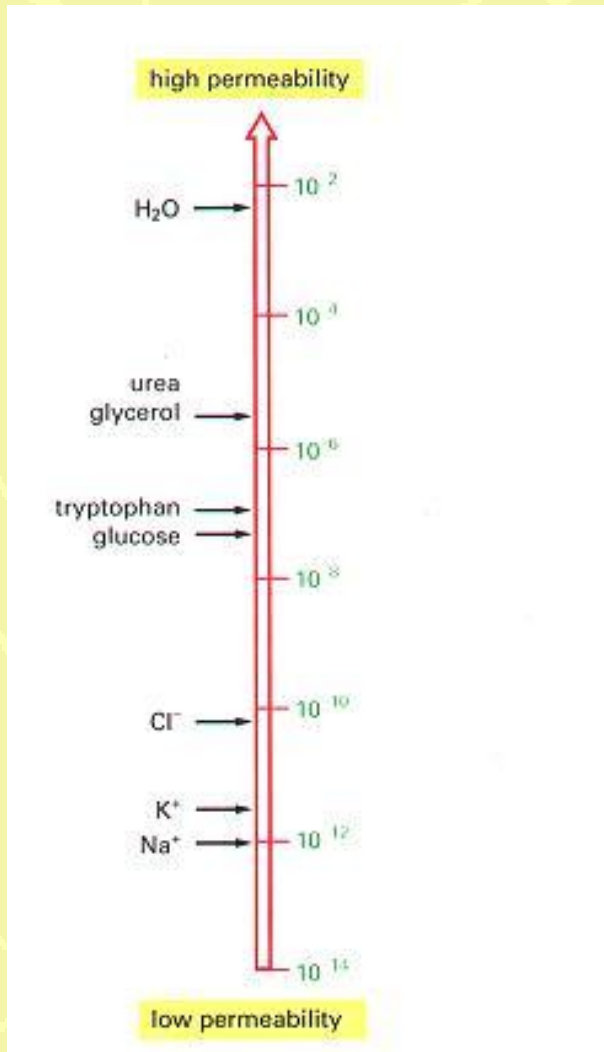


O ATP é gerado a partir de ADP e P_i durante a transferência de elétrons fotossintetizadora em cloroplastos de espinafre iluminados.

DANIEL I. ARNON
1910 - 1994



Transporte através das membranas



PERMEABILIDADE SELETIVA

É a capacidade de permitir o trânsito de íons e pequenas moléculas para regulação do volume celular e do pH obtendo condições ótimas para a realização de reações para eliminação de toxinas e para extração e concentração de combustíveis metabólicos.

A velocidade da permeabilização é tanto maior quanto maiores forem a lipossolubilidade da molécula passante, a magnitude do gradiente de concentração, a fluidez da membrana e a temperatura ambiente; e tanto maior quanto menores forem o tamanho da molécula passante e a espessura da membrana.

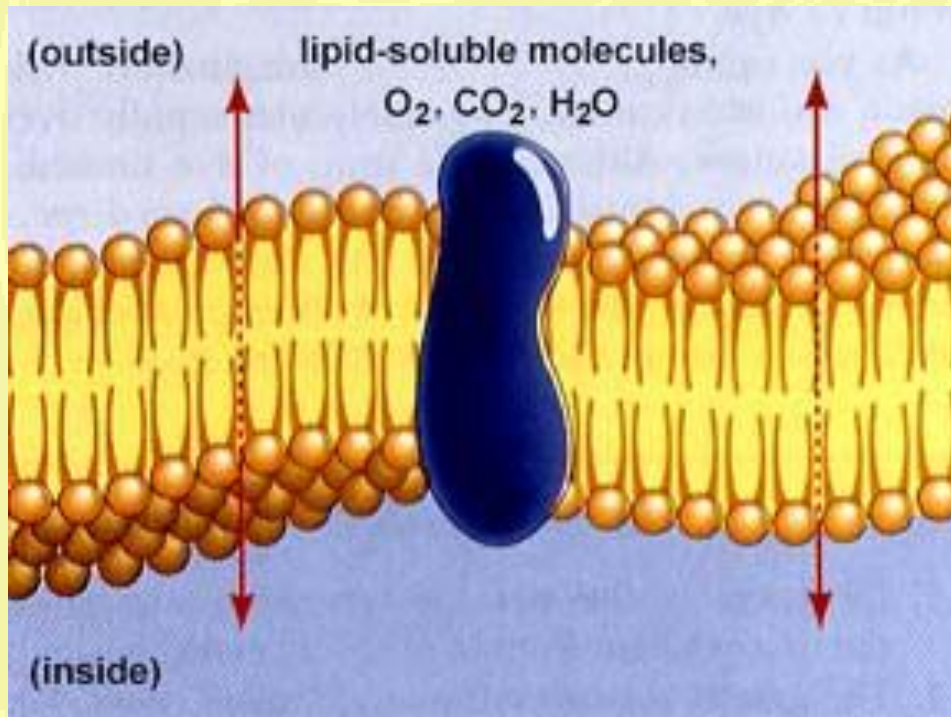
Transporte através das membranas



COSTUMA-SE DIZER QUE A CAPACIDADE DE REPLICAÇÃO (tirar cópia de si mesmo) é essencial à vida, daí a importância do DNA como unidade fundamental desse processo. Contudo, não haveria vida se não houvesse um mecanismo para compartimentar e organizar as várias reações químicas necessárias à vida, inclusive aquelas envolvidas na replicação do DNA. As membranas são justamente o componente biológico responsável pela compartimentação, e, portanto, a garantia da vida. As membranas celulares são compostas por uma camada lipídica na qual estão imersas proteínas.

As proteínas presentes nas membranas podem ser estruturais ou podem possuir função de transdução de sinal (receptores) ou *TRANSPORTE DE SUBSTÂNCIAS*.

Transporte através das membranas



O TRANSPORTE DE SUBSTÂNCIAS através da membrana depende do seu **TAMANHO** e **POLARIDADE**.

SUBSTÂNCIAS APOLARES (O₂, CO₂) ou muito pequenas (H₂O) costumam passar livremente pela matriz fosfolipídica da membrana plasmática das células vegetais.

Transporte através das membranas



Contudo, a maior parte das moléculas que a célula vegetal necessita para seu funcionamento são POLARES (açúcares, aminoácidos e íons). O transporte de MOLÉCULAS POLARES é feito com o auxílio de PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS.

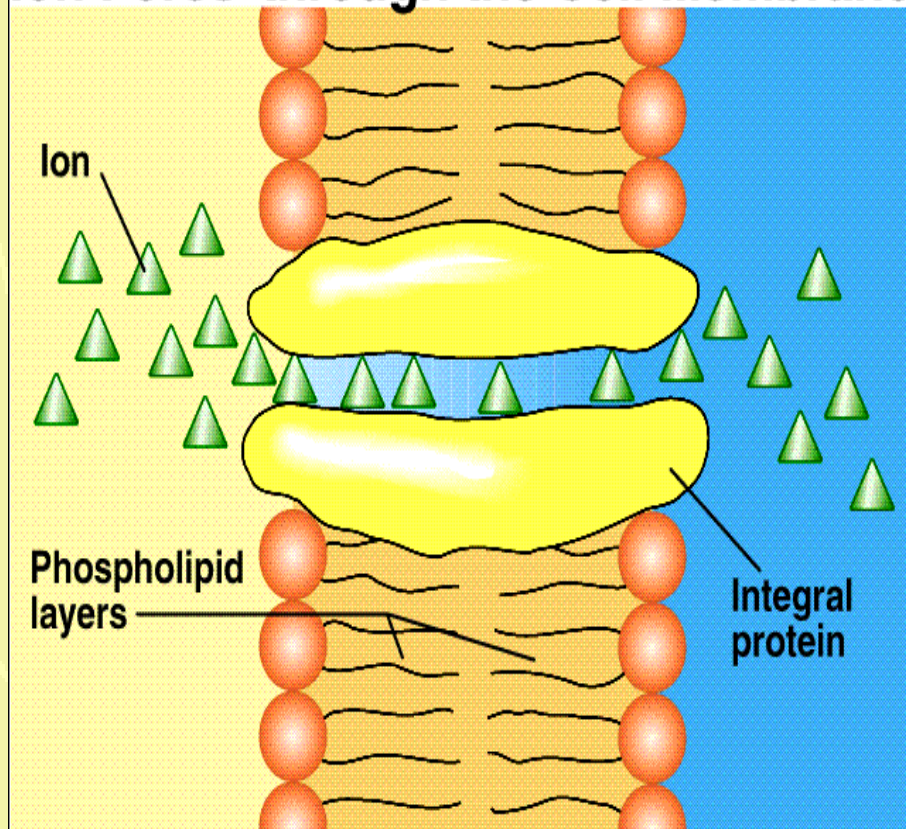
As principais proteínas transportadoras são:

1. CANAIS,
2. CARREADORES
3. BOMBAS

Transporte através das membranas



Ion Pores through the Cell Membrane



0109.PIC

CANAIS

São proteínas transmembranas que formam poros preenchidos por água (hidrofílicos) que atravessam as membranas celulares; quando abertos, os canais protéicos permitem o **transporte passivo** de solutos específicos através deles, obedecendo seus gradientes eletroquímicos. Os canais possuem portões que se abrem ou fecham segundo sinais hormonais, diferenças de potencial elétrico ou luz.

Transporte através das membranas



TIPOS PRINCIPAIS DE CANAIS

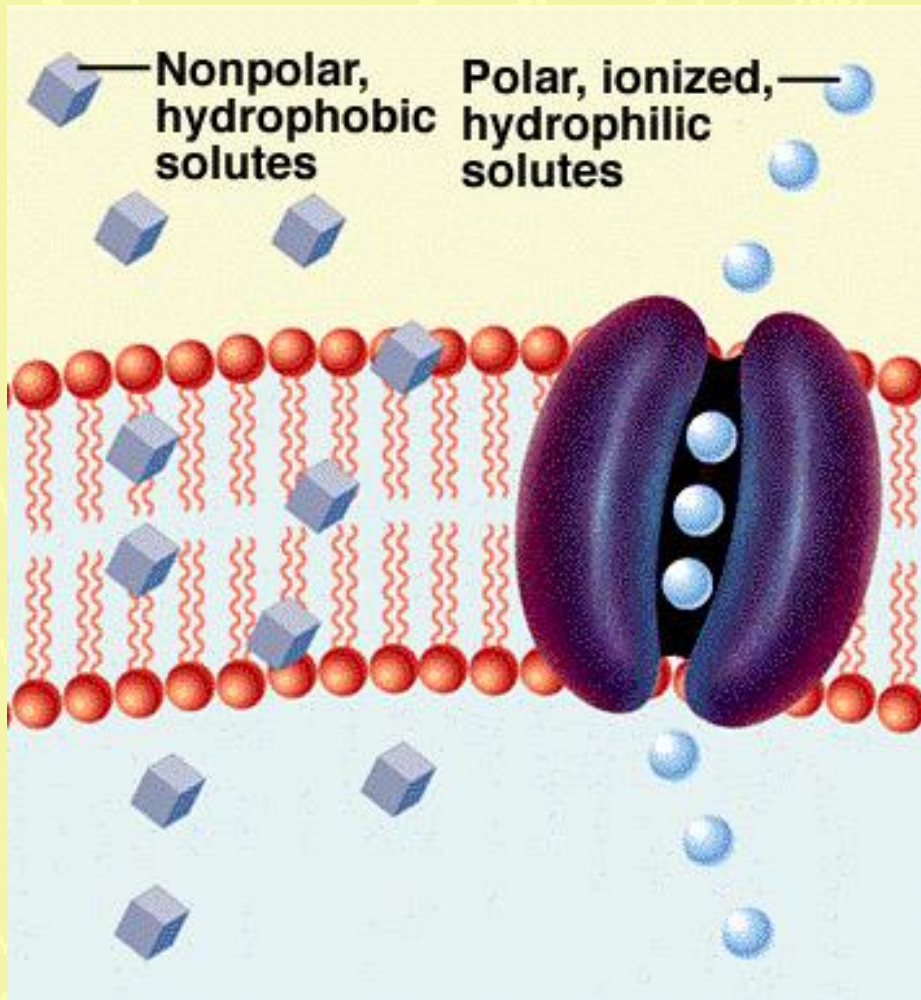
CANAL ATIVADO POR ESTRESSE - proteína de membrana que permite a entrada seletiva de íons específicos para a célula, aberto através de força mecânica.

CANAL COM PORTÕES CONTROLADOS POR VOLTAGEM - proteína de membrana que permite a passagem seletiva de íons como o Na^+ e K^+ através da membrana e que é aberto pela alteração do potencial de membrana. Encontrado principalmente em células excitáveis eletricamente como células nervosas e musculares em animais e em células estomáticas em plantas.

CANAL DE PORTÃO COM LIGANTE - proteína do canal iônico, que provoca sua abertura quando ligada a uma pequena molécula, como um hormônio ou neurotransmissor.

CANAL IÔNICO - proteína transmembrana que forma um canal preenchido por água através da camada bilipídica, pela qual íons inorgânicos específicos podem ser difundidos passivamente de acordo com o gradiente eletroquímico.

Transporte através das membranas

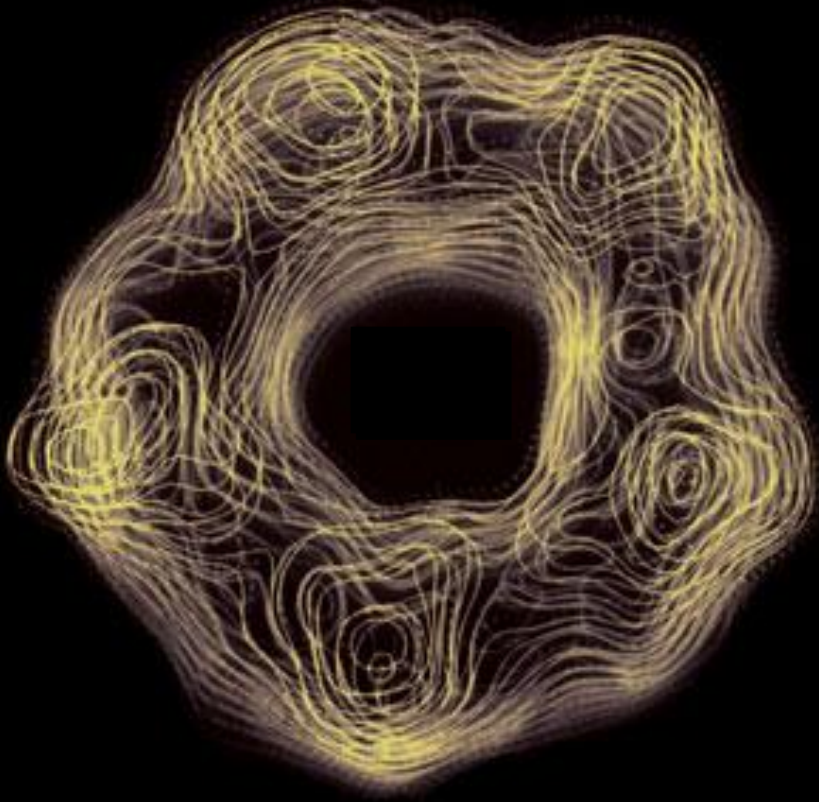


OS CANAIS transportam íons pela simples abertura de um poro. Um canal aberto pode permitir a passagem de *cem milhões de íons por segundo* (10^8 íons/s). O que determina a especificidade de um canal é o tamanho de seu poro e a densidade da superfície carregada em seu interior.

Transporte através das membranas

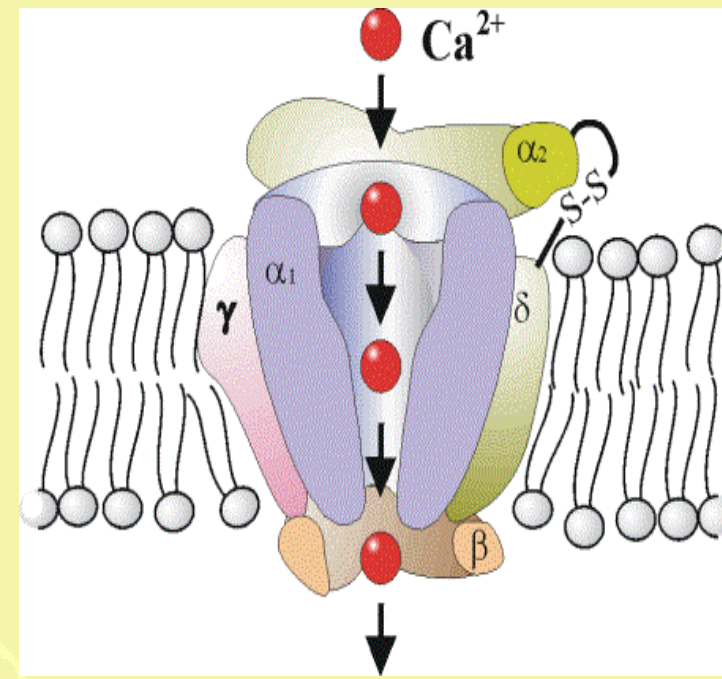
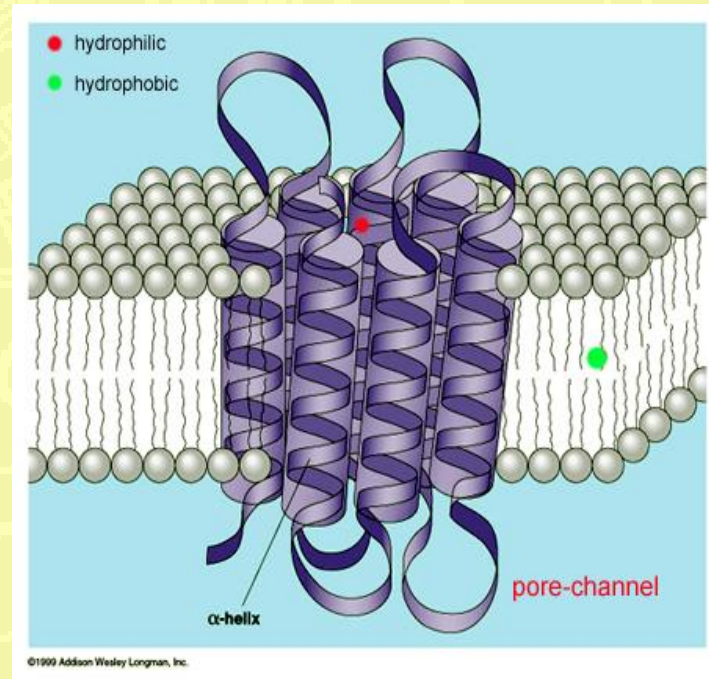


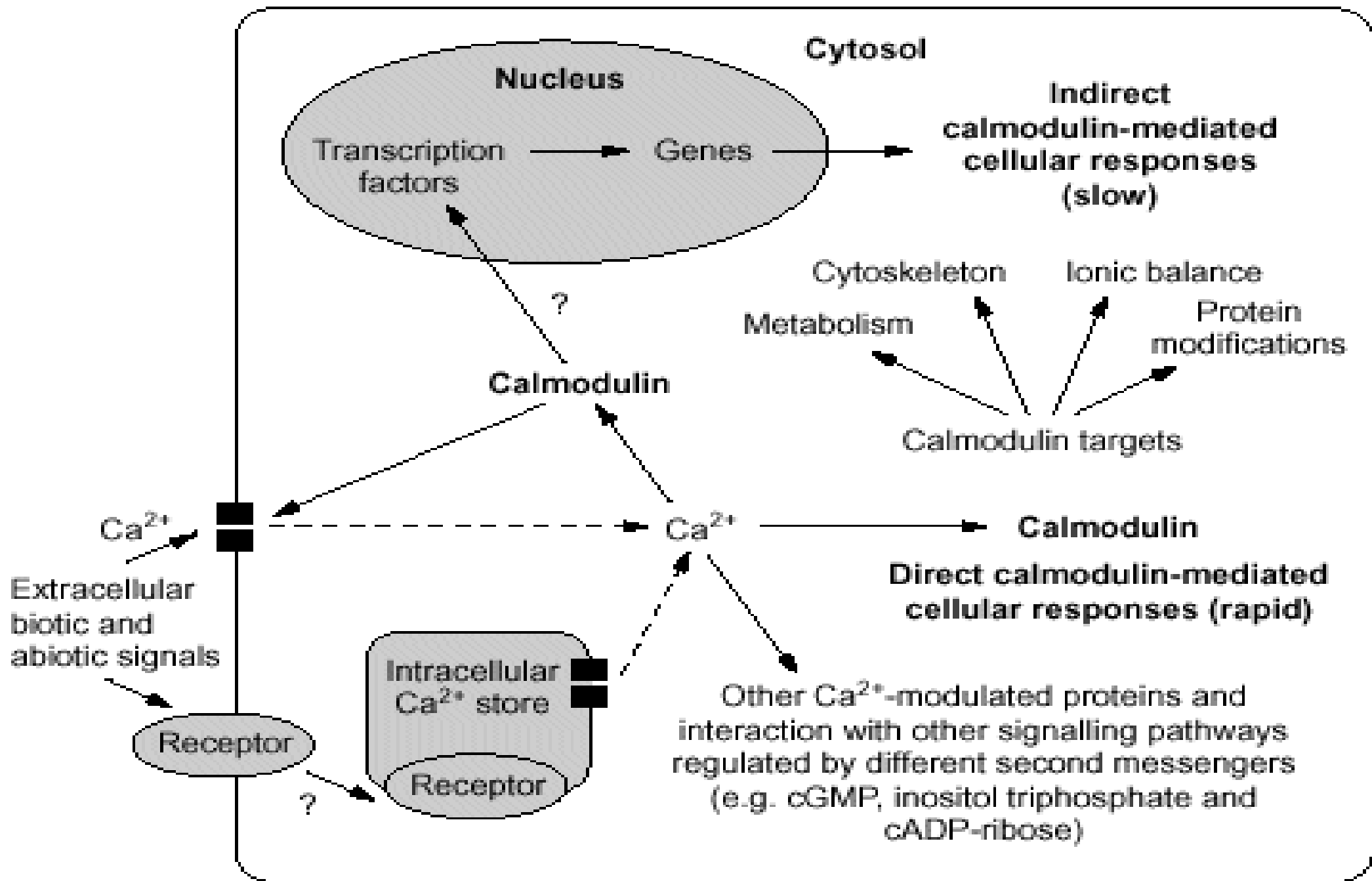
Ion channels



Até o momento sabemos que os canais estão envolvidos no transporte de íons K^+ , Cl^- , Ca^{++} e água.

Canais de Potássio, Cloro e Cálcio



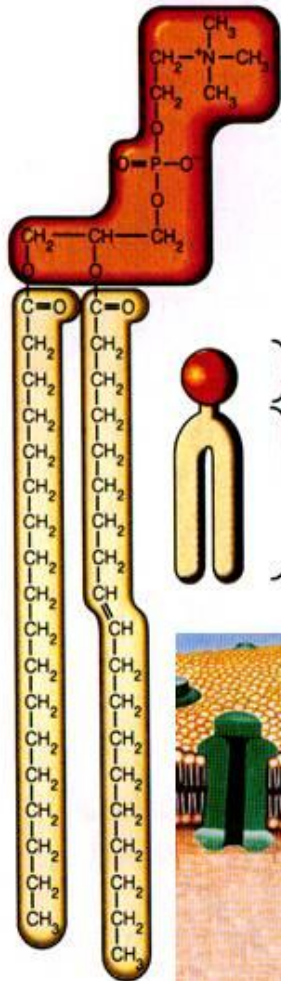


TRANSPORTE DE ÁGUA ATRAVÉS DA MEMBRANA

Lipids and Membranes

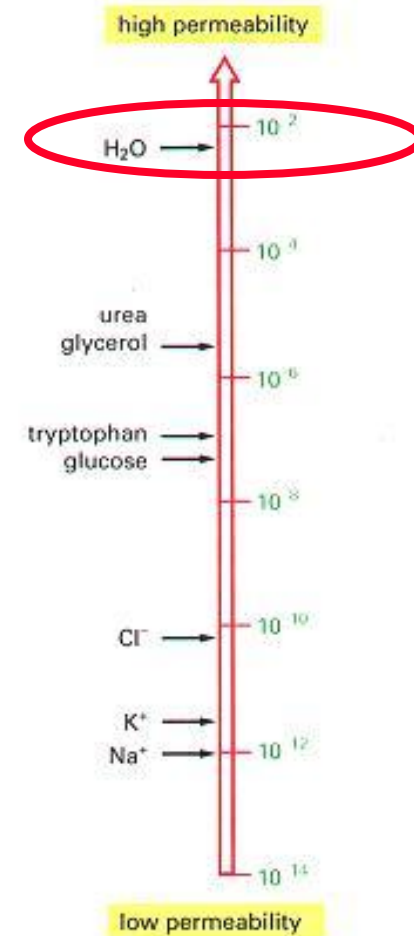
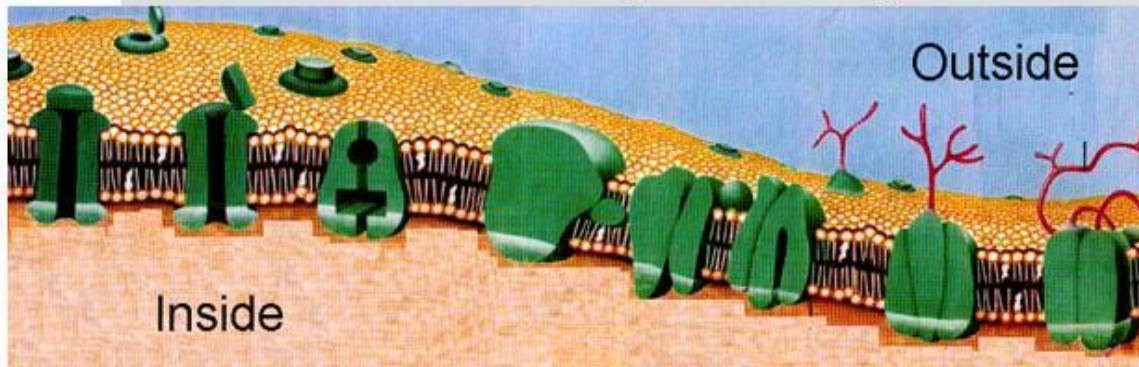
The amphiphilic nature of lipids leads to the formation a bilayer.

Proteins in the bilayer will provide selective permeability.



polar (hydrophilic) head

nonpolar (hydrophobic) tails



TRANSPORTE DE ÁGUA ATRAVÉS DA MEMBRANA

Como explicar a alta permeabilidade da membrana plasmática de natureza *LIPÍDICA* e *APOLAR* à água: uma molécula *POLAR* e *INSOLÚVEL EM LIPÍDIO* ?

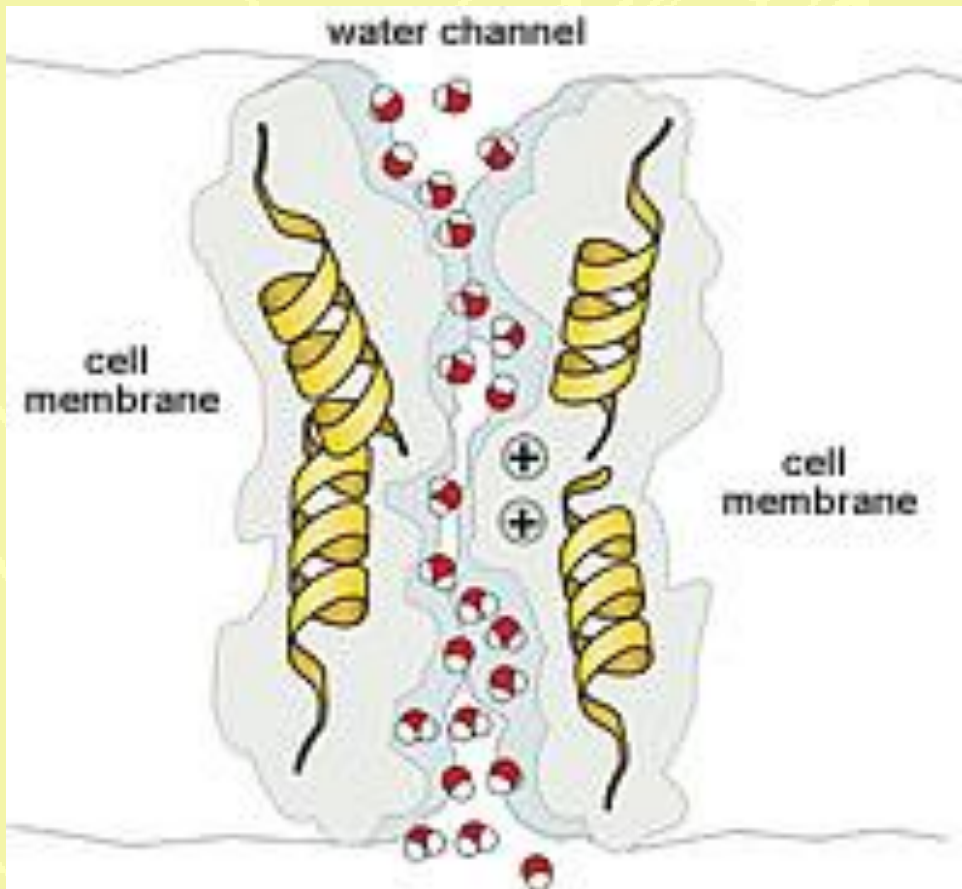
TRANSPORTE DE ÁGUA ATRAVÉS DA MEMBRANA

O movimento da água, molécula vital para a vida das plantas, através das membranas vegetais há muito tempo tem despertado o interesse dos pesquisadores. Especificamente, havia dúvida se o movimento de água para dentro das células limitava-se à difusão de moléculas de água através da dupla camada lipídica da membrana plasmática ou se também envolvia difusão pelos poros protéicos.

TRANSPORTE DE ÁGUA ATRAVÉS DA MEMBRANA

Alguns estudos indicavam que a difusão diretamente por meio da dupla camada lipídica não era suficiente para explicar as taxas de movimento observadas pelas membranas, mas a evidência em favor de poros microscópicos não era convincente. Essa incerteza foi desfeita com a descoberta das *AQUAPORINAS*.

Aquaporinas



Os canais são limitados a íons ou **água**. No caso da água, apesar de ela poder atravessar a membrana livremente, recentemente foi descoberto um canal especial envolvido em seu transporte, o qual foi denominado AQUAPORINA.

AQUAPORINAS existem em membranas animais e vegetais e sua atividade é regulada em resposta à disponibilidade de água.

Os 'Porteiros' da Membrana Celular



2003



Peter Agre



Roderick MacKinnon

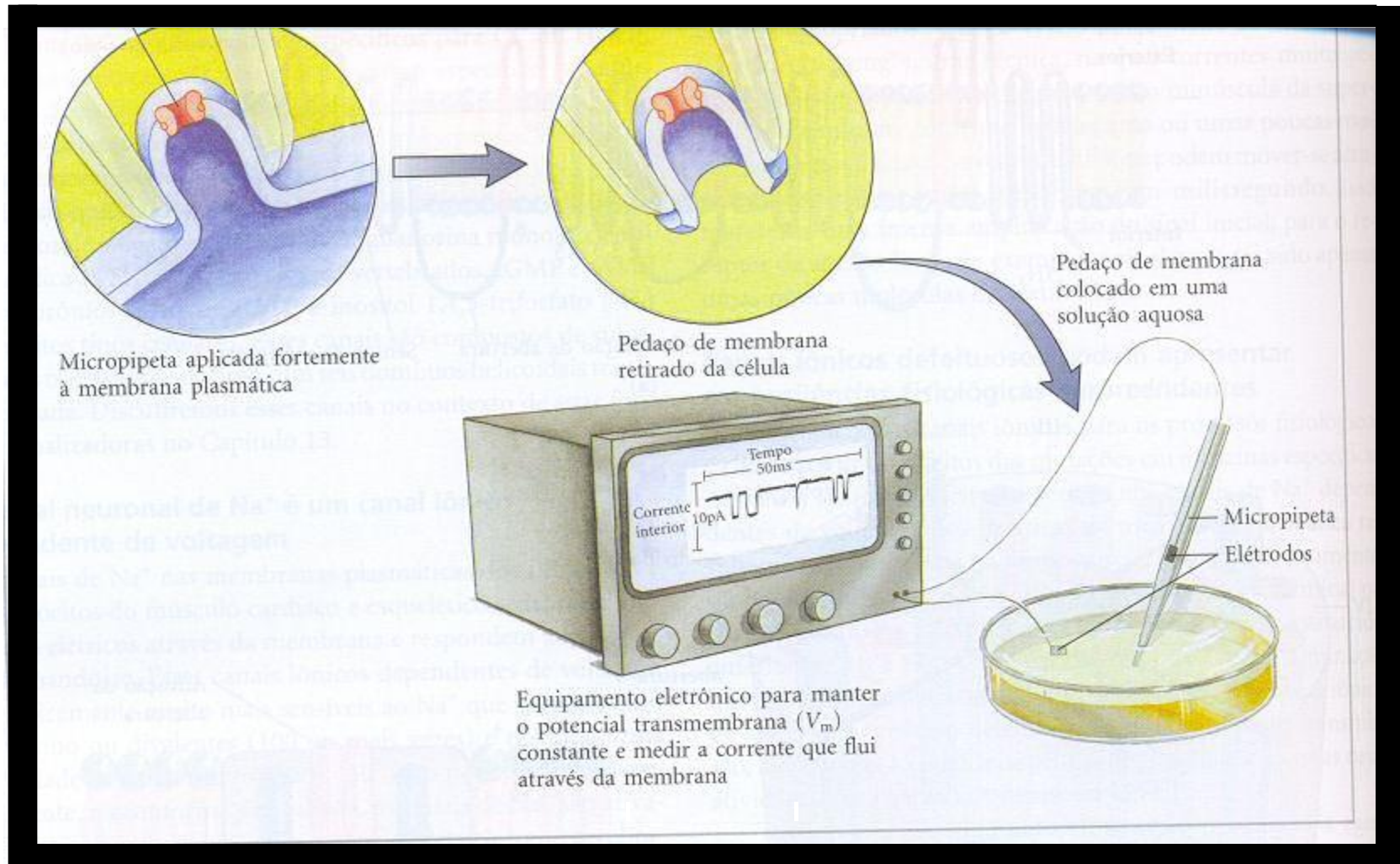
Premiados ajudaram a explicar canais que regulam a entrada e saída de água e íons

Transporte através das membranas



MECANISMO DE ABERTURA DO CANAL - A região do canal que determina a especificidade é denominada portão ou filtro de seletividade. O mecanismo do portão dos canais parece ser regulado pela presença de aminoácidos básicos (lisina, arginina e histidina), os quais possuem carga positiva. De acordo com a voltagem da membrana, os aminoácidos básicos podem estar carregados ou não. A presença de cargas nos resíduos de aminoácidos confere repulsão, abrindo o canal.

PORTÃO - um domínio estrutural da proteína canal que abre ou fecha o canal, em resposta a sinais externos, como mudança de voltagem, ligação hormonal ou luz.



MEDIDAS ELÉTRICAS DA FUNÇÃO CANAL IÔNICO - A “atividade” de um canal iônico é estimada pela medida de íons através dele, usando a técnica de pinçamento de membrana.

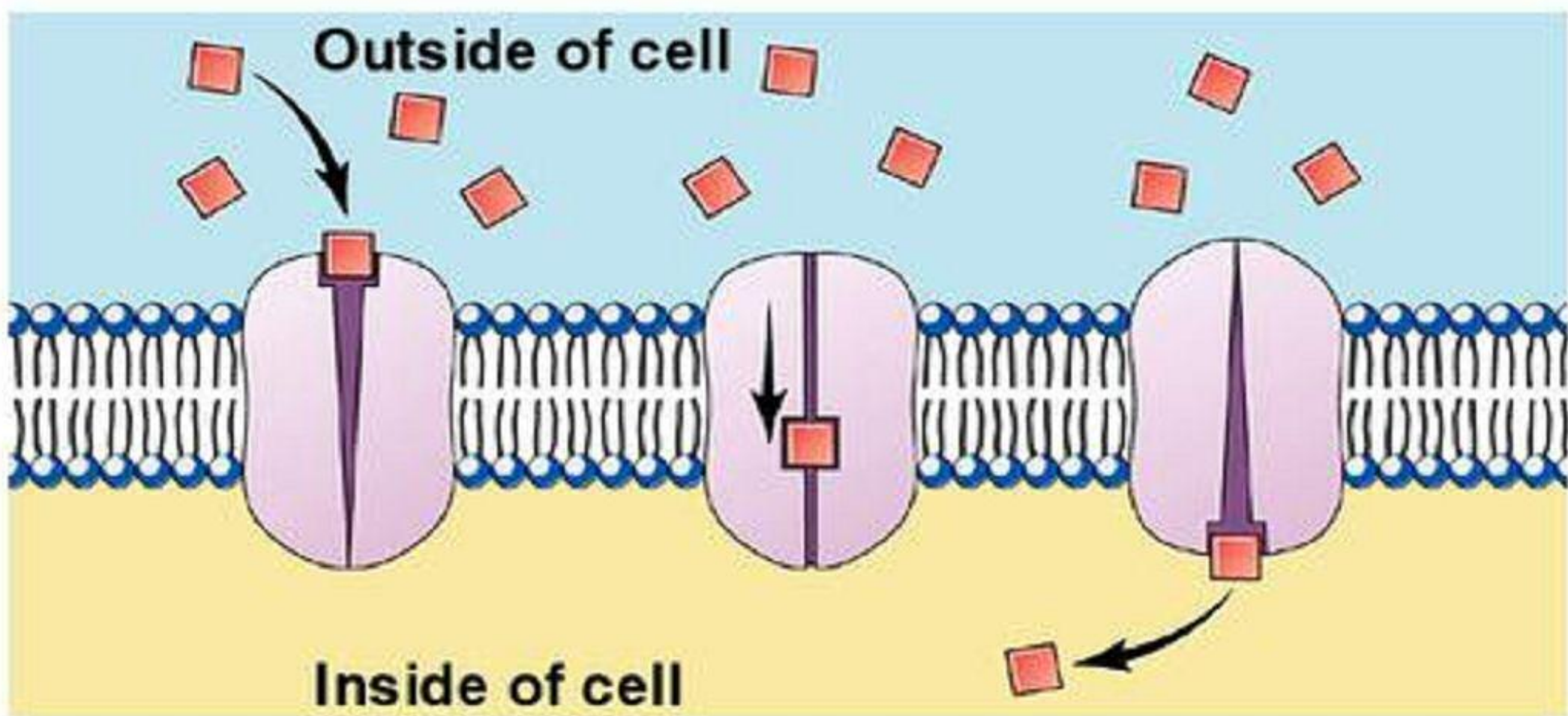
Transporte através das membranas



CARREADORES

São proteínas de transporte altamente específicas que não se estendem através da membrana plasmática. O transporte ocorre através da ligação do soluto em um sítio específico da proteína. Ao se ligar, a proteína sofre uma mudança de forma (conformacional) e libera o soluto do outro lado da membrana. O transporte se completa quando a substância se dissocia do sítio de ligação com o carreador.

Facilitated Diffusion

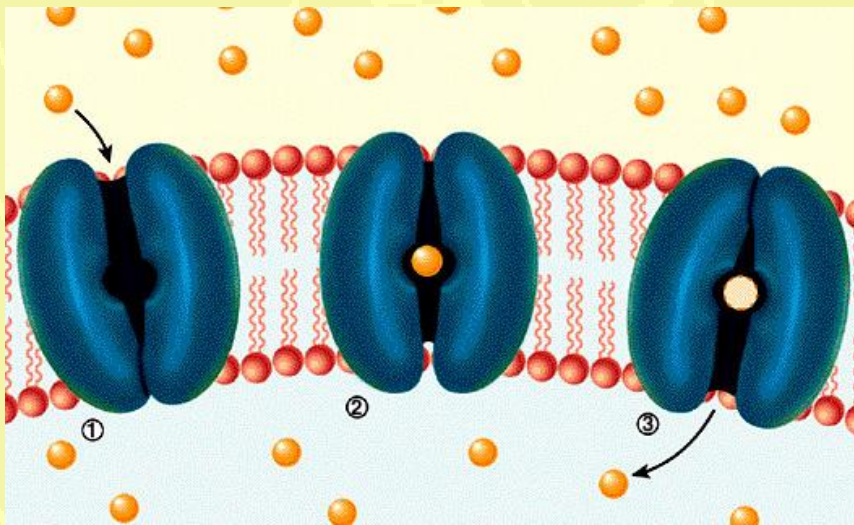


Transporte através das membranas

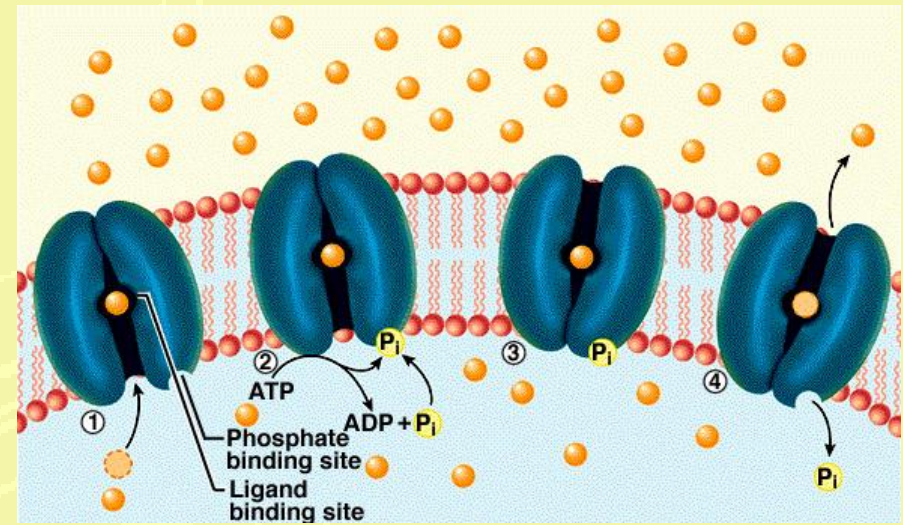


CARREADORES

O transporte por carreadores pode ser tanto passivo como ativo. Como uma mudança conformacional na proteína é necessária para transportar moléculas ou íons individuais, a taxa de transporte por um carreador é muitas vezes mais lenta que a de um canal, sendo da ordem de cem a um milhão de íons por segundo.



Passivo: a favor de um gradiente

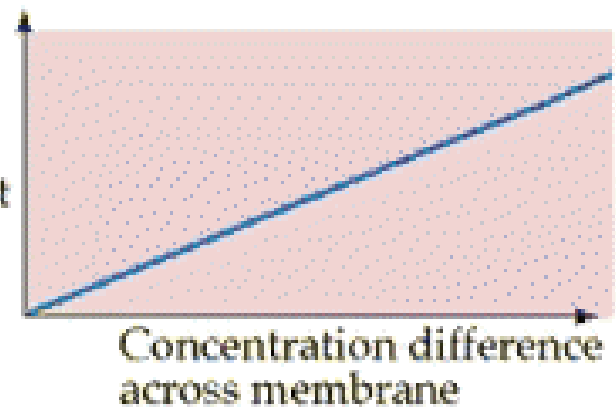
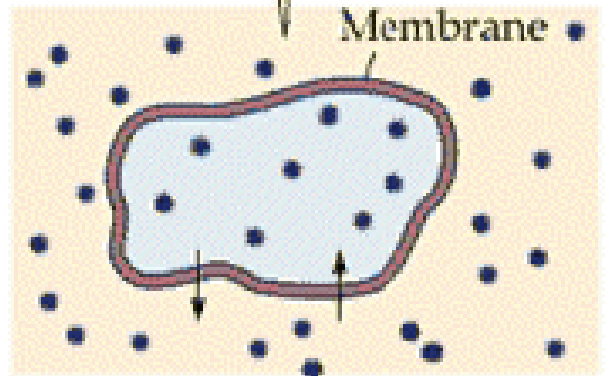
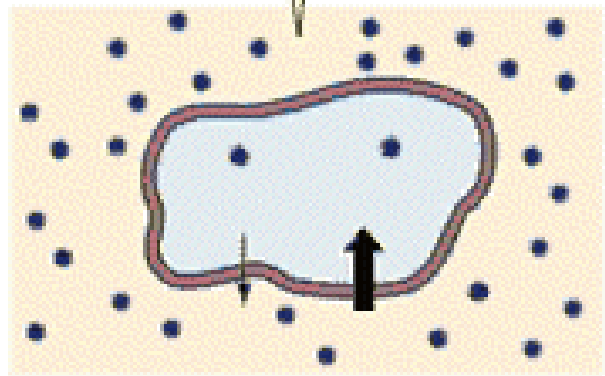


Ativo: contra um gradiente

(a)

The rate of simple diffusion is directly proportional to the concentration difference.

At equilibrium the concentration of solute inside the membrane equals that outside it.



(b)

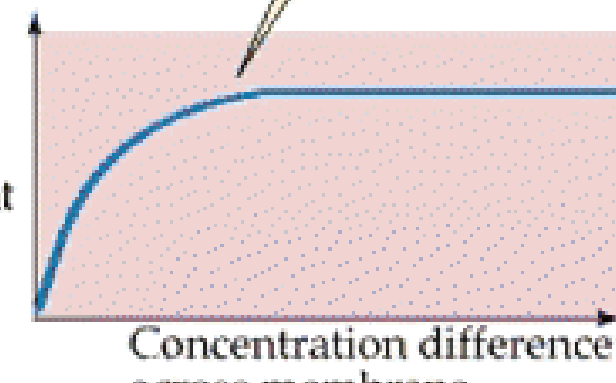
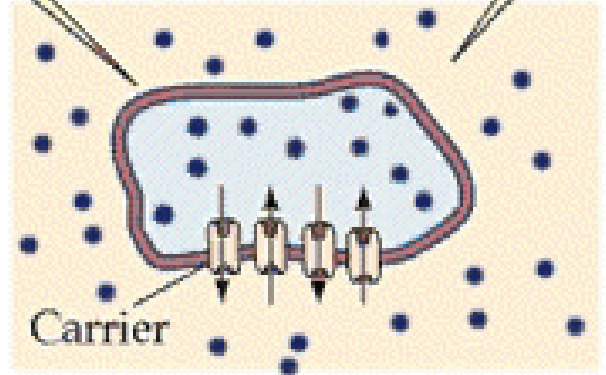
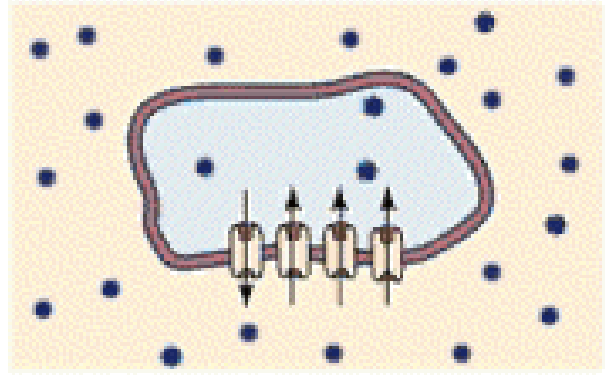
Before equilibrium

After equilibrium

With facilitated diffusion, equal concentrations are also reached, but a protein carrier in the membrane allows the rate of solute crossing to be greater.

Equilibrium is achieved more quickly with facilitated diffusion.

This rate reaches a maximum when all carriers are saturated with solute.



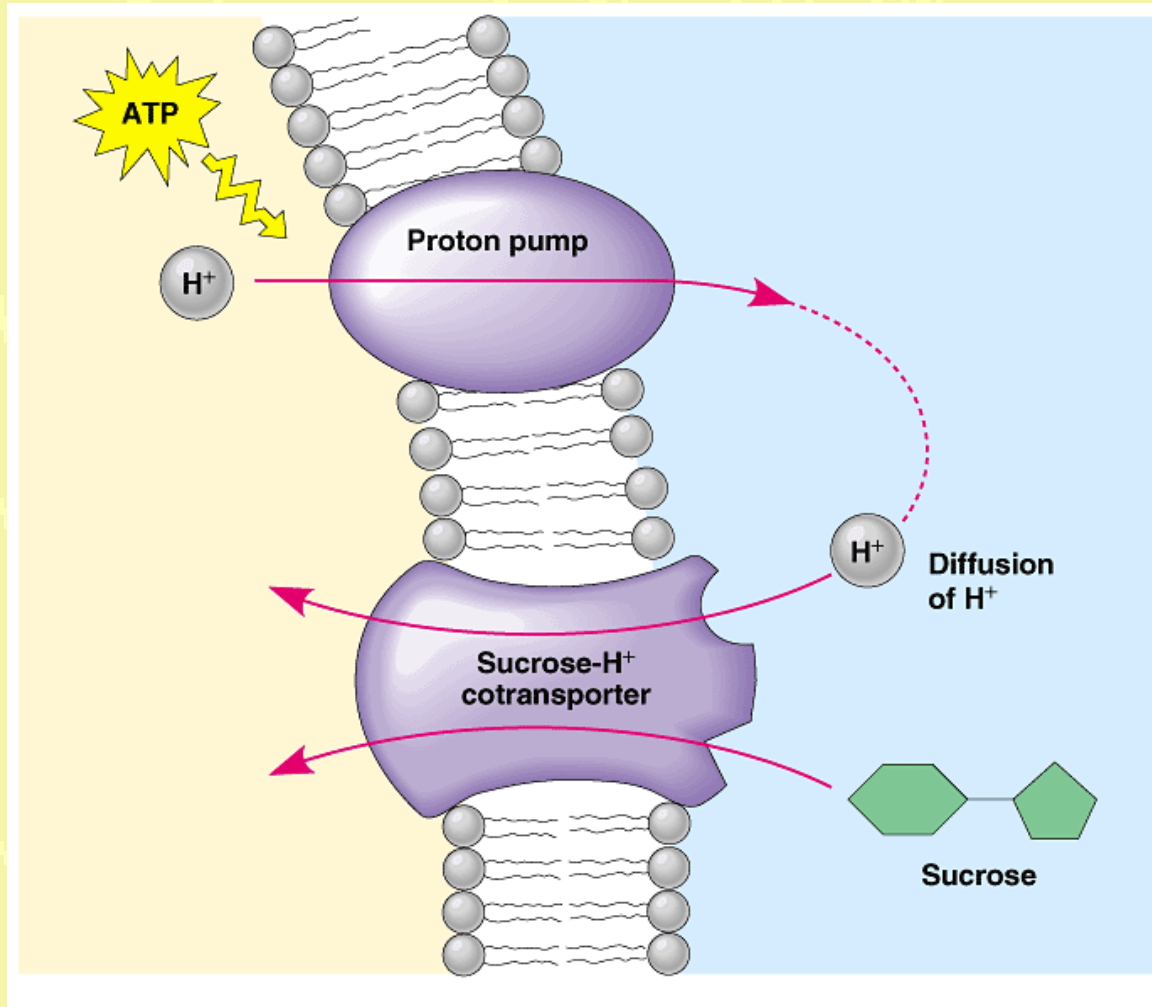
Transporte através das membranas



CARREADORES

Existem carreadores para NO_3^- , PO_4^{-3} , K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} e metais pesados. Os carreadores de Na^+ e metais pesados são utilizados não para a entrada desses elementos, mas para isolá-los do citosol jogando-os no vacúolo ou fora da célula (apoplasto).

Transporte através das membranas



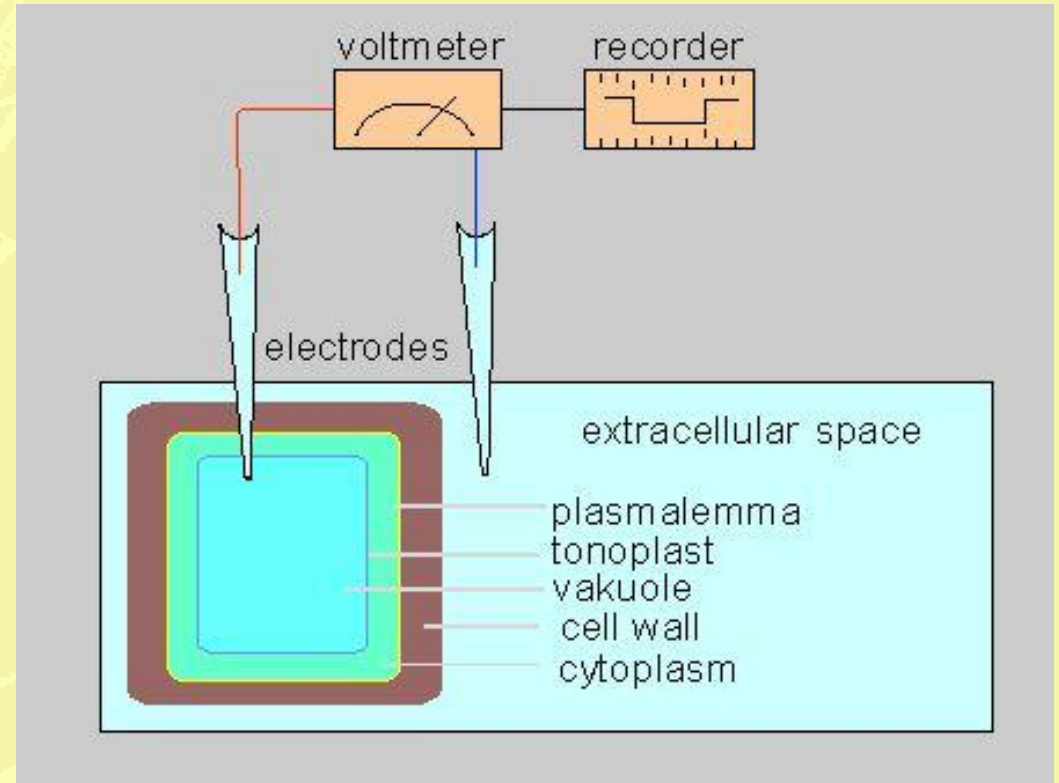
BOMBAS

Proteínas transmembrana que promovem a transporte ativo de íons e pequenas moléculas através da bicamada lipídica, usando energia derivada da hidrólise do ATP.

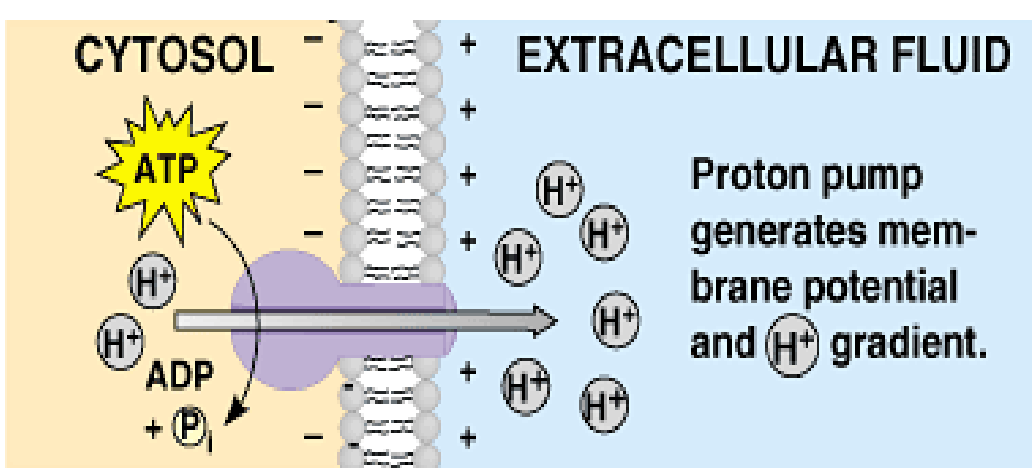
Transporte através das membranas



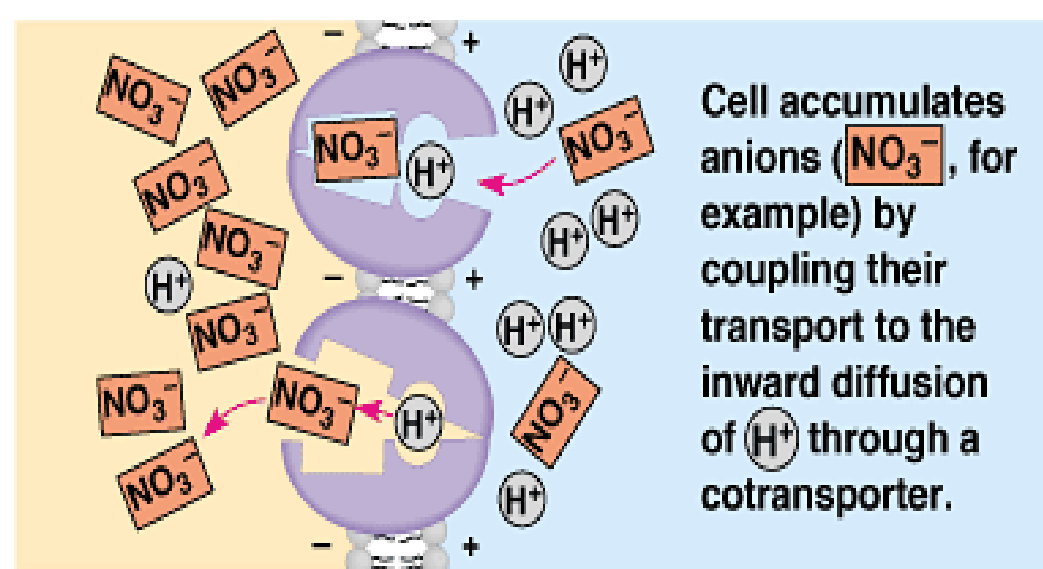
WALTHER HERMANN NERNST
1864 - 1941
Prêmio Nobel em 1920



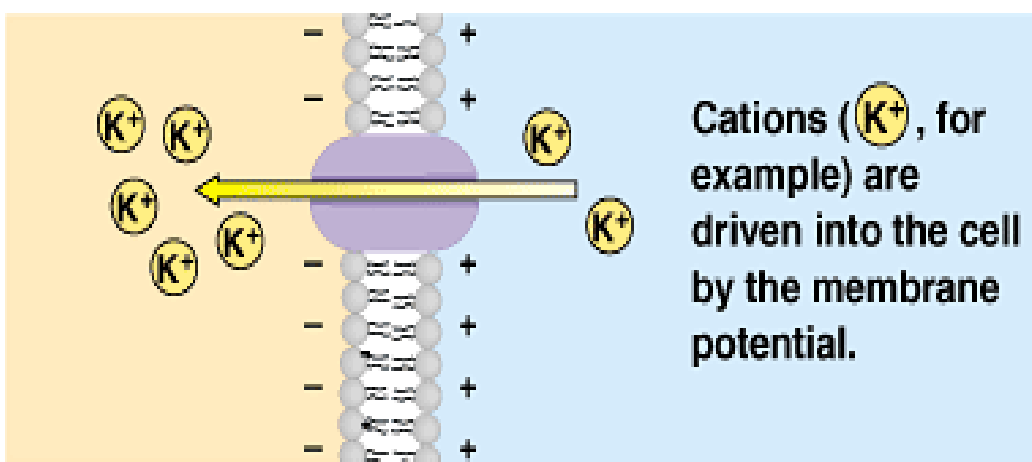
Células vegetais saudáveis apresentam um potencial de membrana que varia de - 50 a -250 mV.



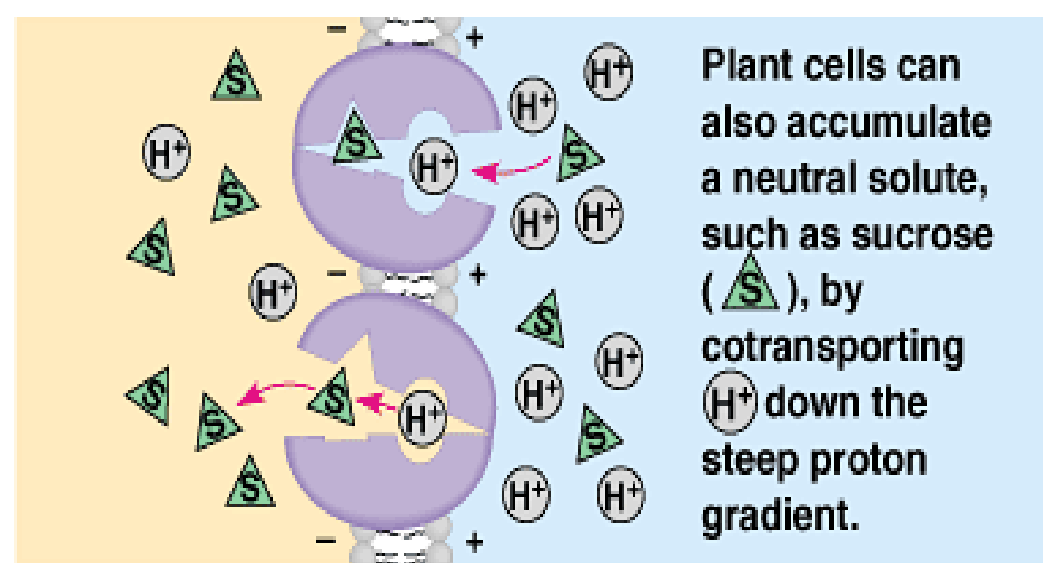
(a) Proton pump



(c) Anion uptake



(b) Cation uptake



(d) Transport of a neutral solute

Transporte através das membranas



WHEELER e HANCHEY (1963)

Toxinas produzidas por patógenos alteram a permeabilidade das membranas celulares.



3 HIPÓTESES:

1. Receptores da membrana plasmática interagem diretamente com o patógeno ou com seu metabólito;
2. Interação do patógeno com as $ATPa_{ses}$ afetando a eletrofisiologia da célula;
3. A disfunção da membrana resultaria do mal funcionamento dos cloroplastos e mitocôndrias: fornecedores de energia para manutenção e reparação da membrana.

Transporte através das membranas

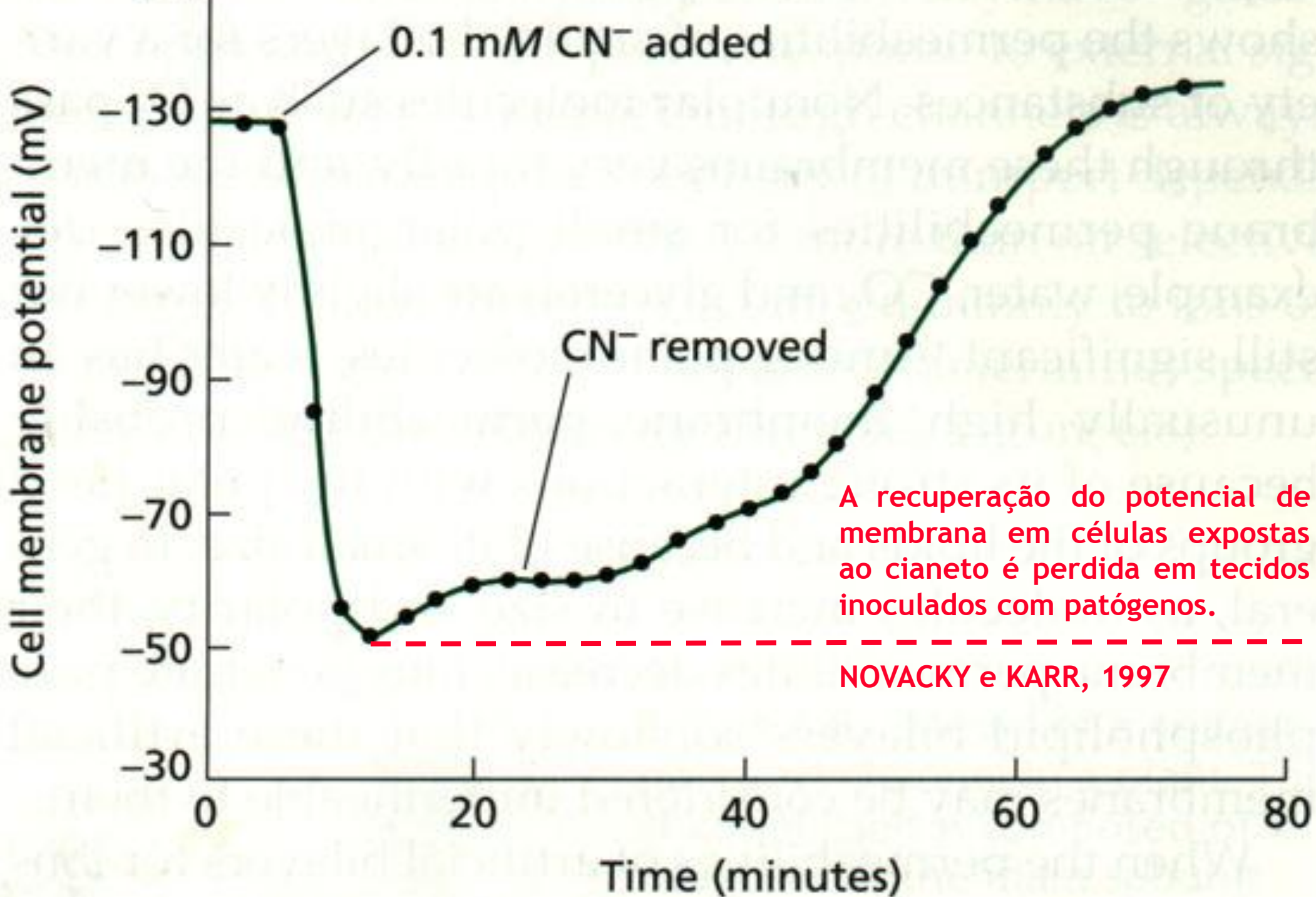


ALGUNS EXEMPLOS:

STEELE e col. (1996) - Tentoxina produzida pela *Alternaria tenuis* inibiu a fotofosforilação de cloroplastos;

WHEELER (1997) - Toxinas produzidas por *Helminthosporium maydis* e *Phyllosticta maydis* inibiram a atividade fosforilativa de mitocôndrias;

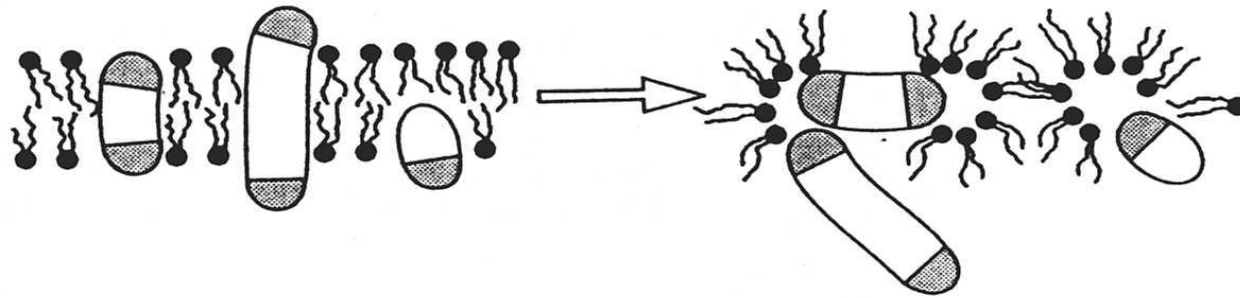
HANCHEY e WHEELER (1998) - Metabólitos produzidos pelos patógenos degradariam lipídios e proteínas das membranas;



A recuperação do potencial de membrana em células expostas ao cianeto é perdida em tecidos inoculados com patógenos.

NOVACKY e KARR, 1997

Orientações dos lipídios nas membranas em relação ao ataque por patógenos (Hanchey e Wheeler, 1998).



Normal

Infectada

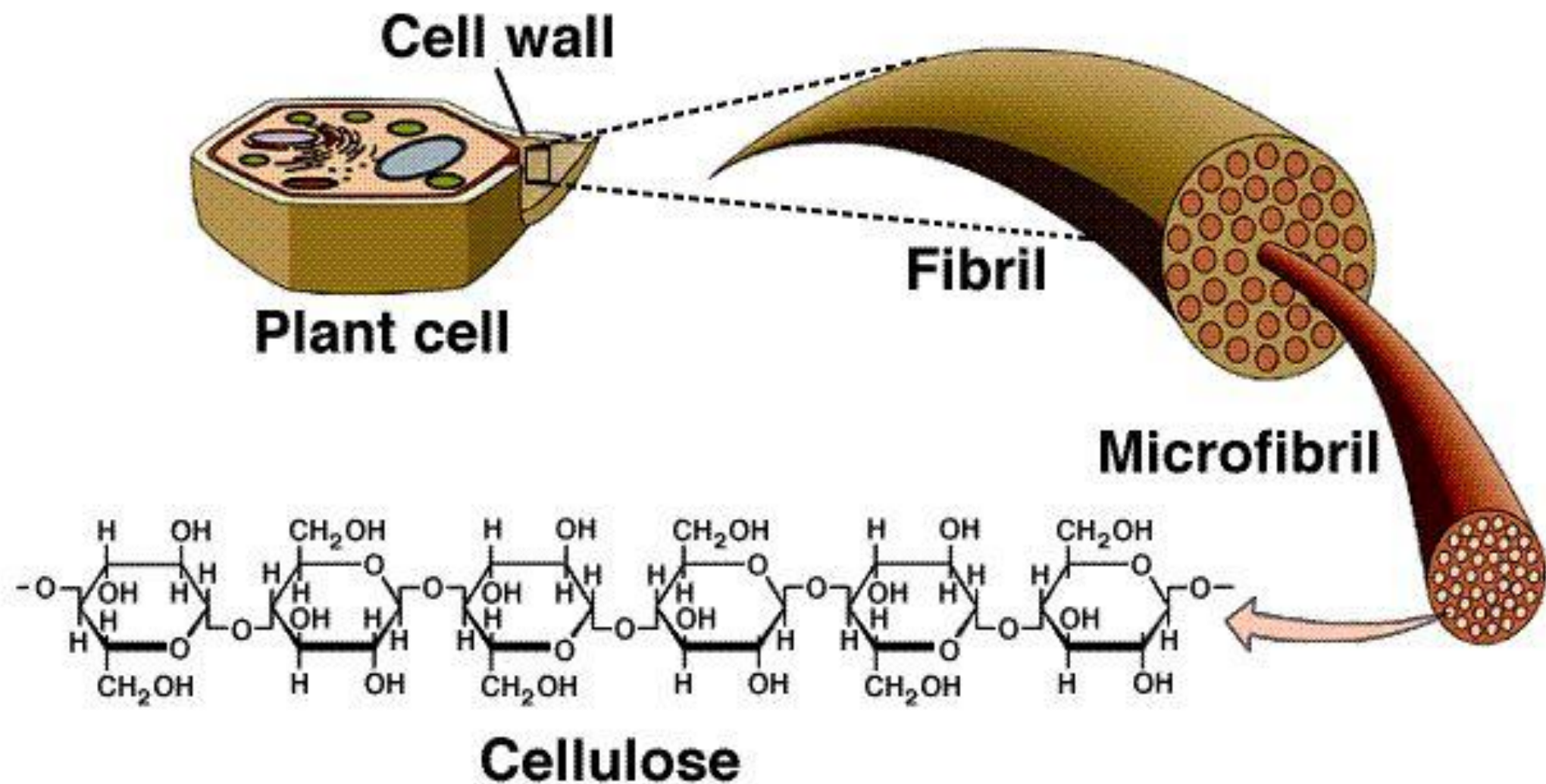
Transporte através das membranas

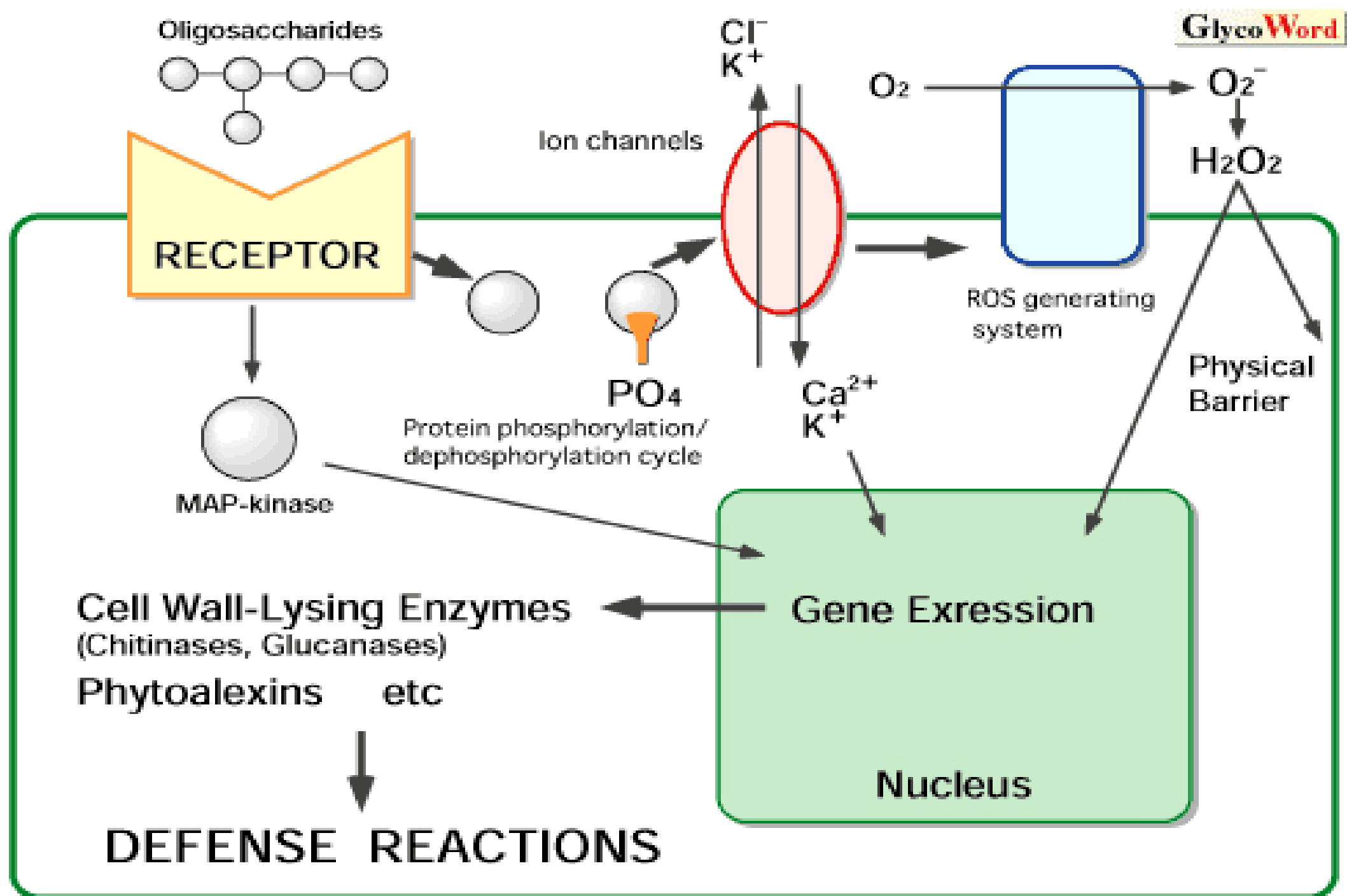


ALGUNS EXEMPLOS:

HEITEFUSS e WOLF (1996) - Toxinas produzidas por patógenos causariam um enfraquecimento da parede celular através do rompimento das ligações de pectato. É possível, que a falta de pressão hidrostática exercida pela parede celulósica (agora mais enfraquecida) permita um aumento descontrolado do volume do vacúolo e ruptura do tonoplasto. O extravasamento do conteúdo vacuolar alteraria o pH do citossol afetando diretamente o potencial da membrana (E_M).

Arrangement of Fibrils, Microfibrils, and Cellulose in Cell Walls





Transporte através das membranas



ALGUNS EXEMPLOS:

WHEELER (1998) - A perda da permeabilidade natural da membrana plasmática sob o ataque de patógenos seria o resultado de um descontrole total do metabolismo celular.

A produção de energia por sistemas enzimáticos (ATP_{ases}) altamente organizados seria interrompida e a descompartimentalização celular resultaria em reações descontroladas assim como em inativação de enzimas citossólicas causada pelo extravasamento de fenóis e outros produtos tóxicos do vacúolo.

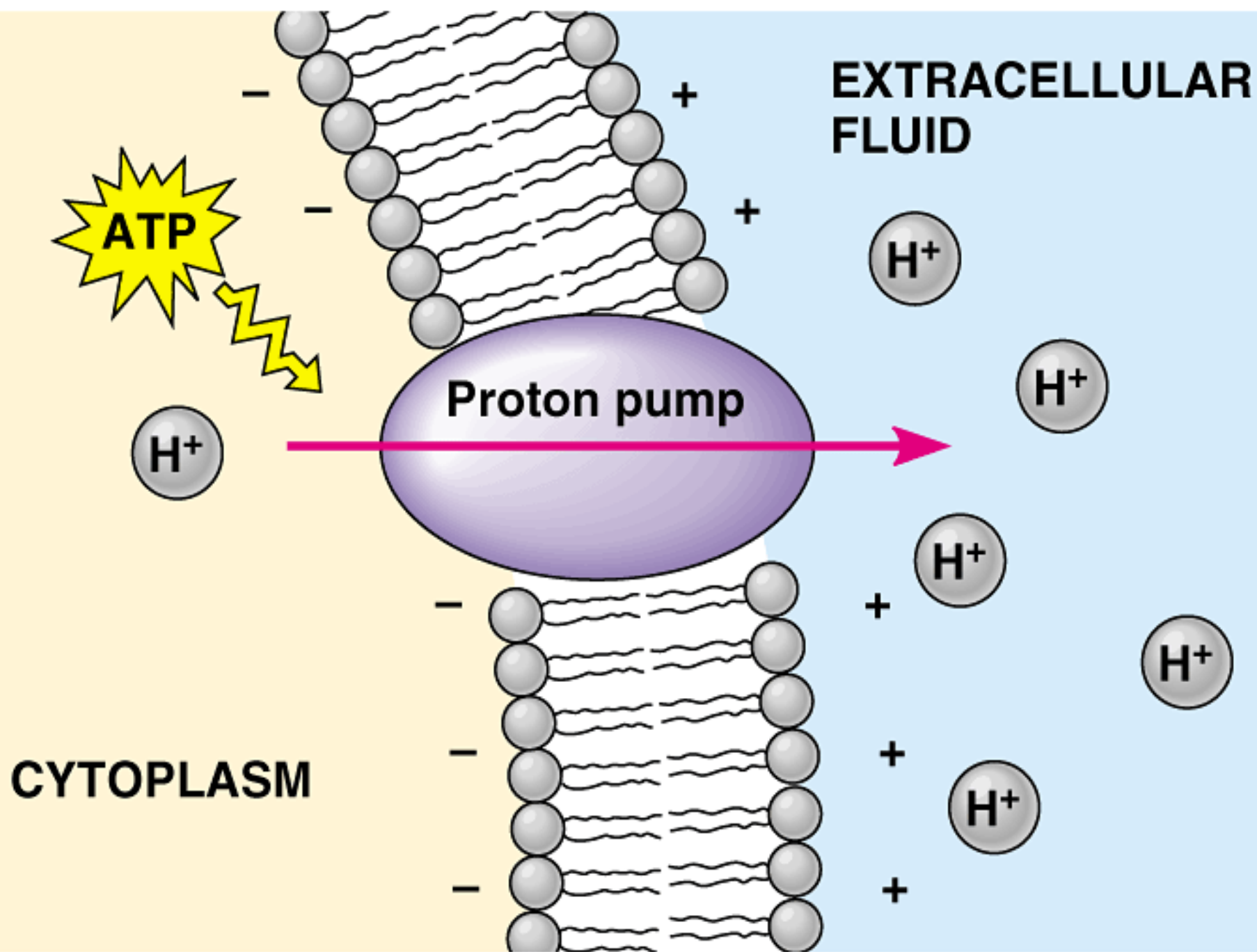
Transporte através das membranas

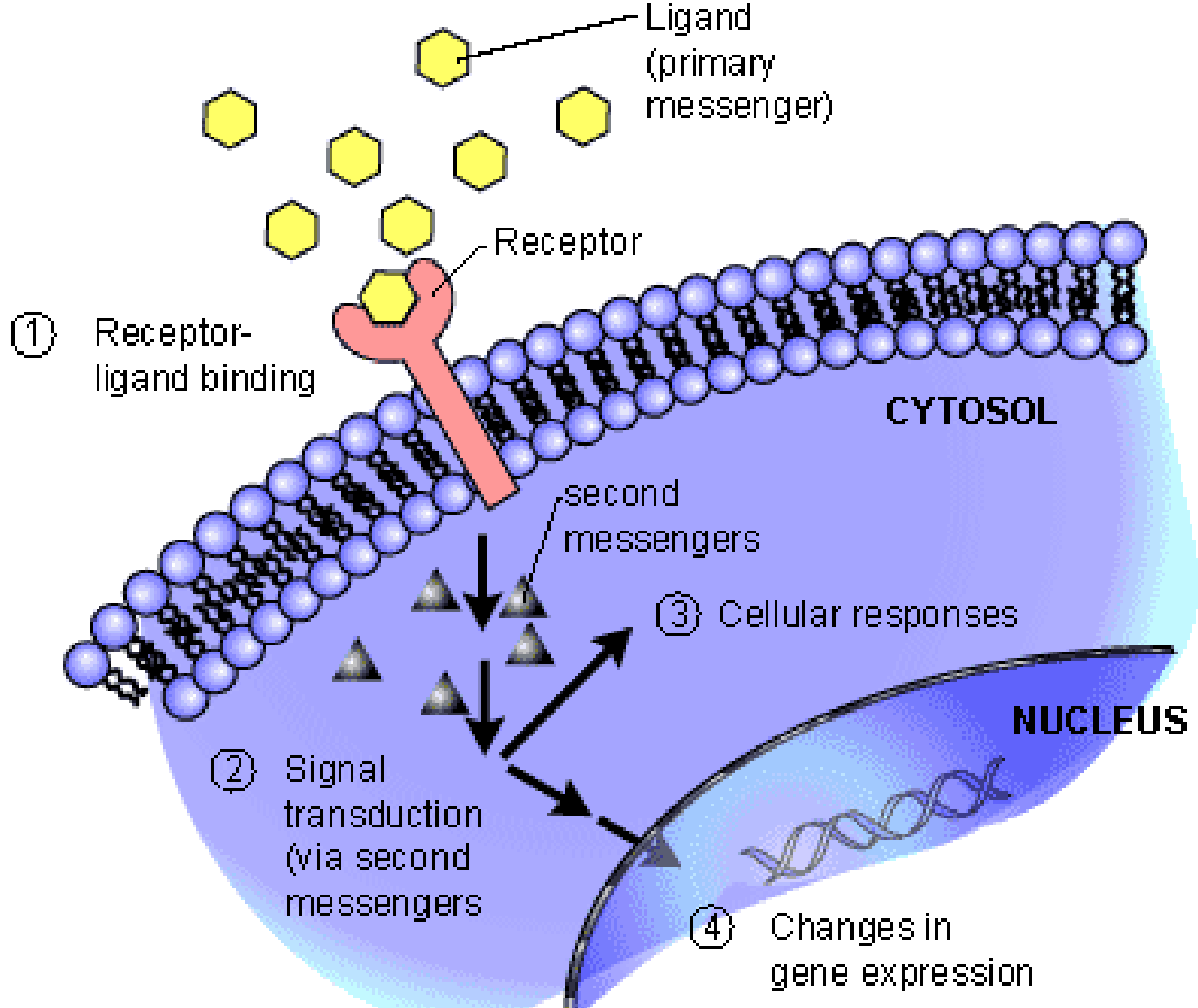


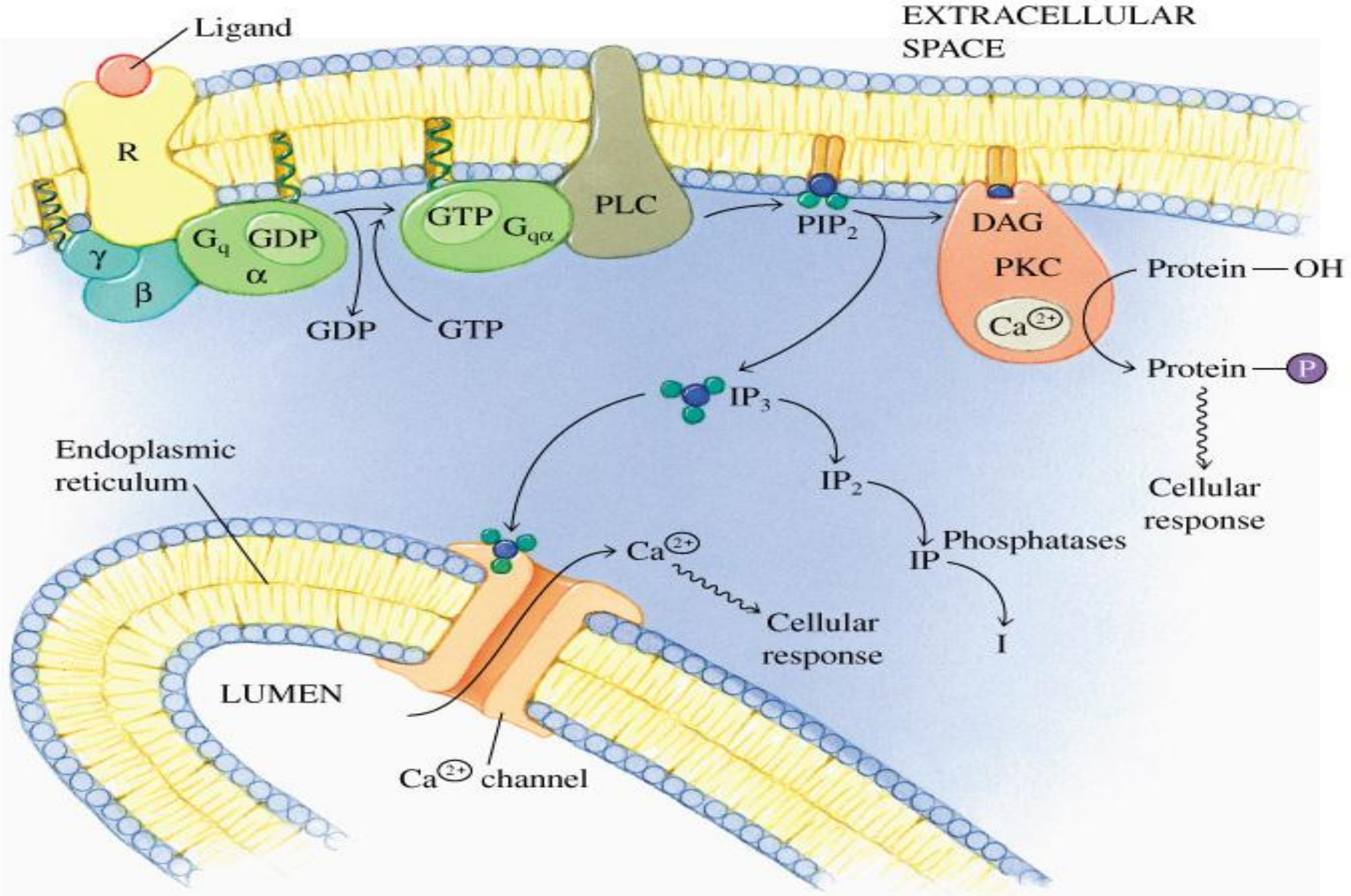
ALGUNS EXEMPLOS:

COLLANDER (1999) - Toxinas produzidas por patógenos causam uma despolarização da membrana plasmática.

DALY (1995) - Tecidos infectados apresentam altos teores de hormônios. Auxina, citocinina e etileno afetam a permeabilidade das membranas.







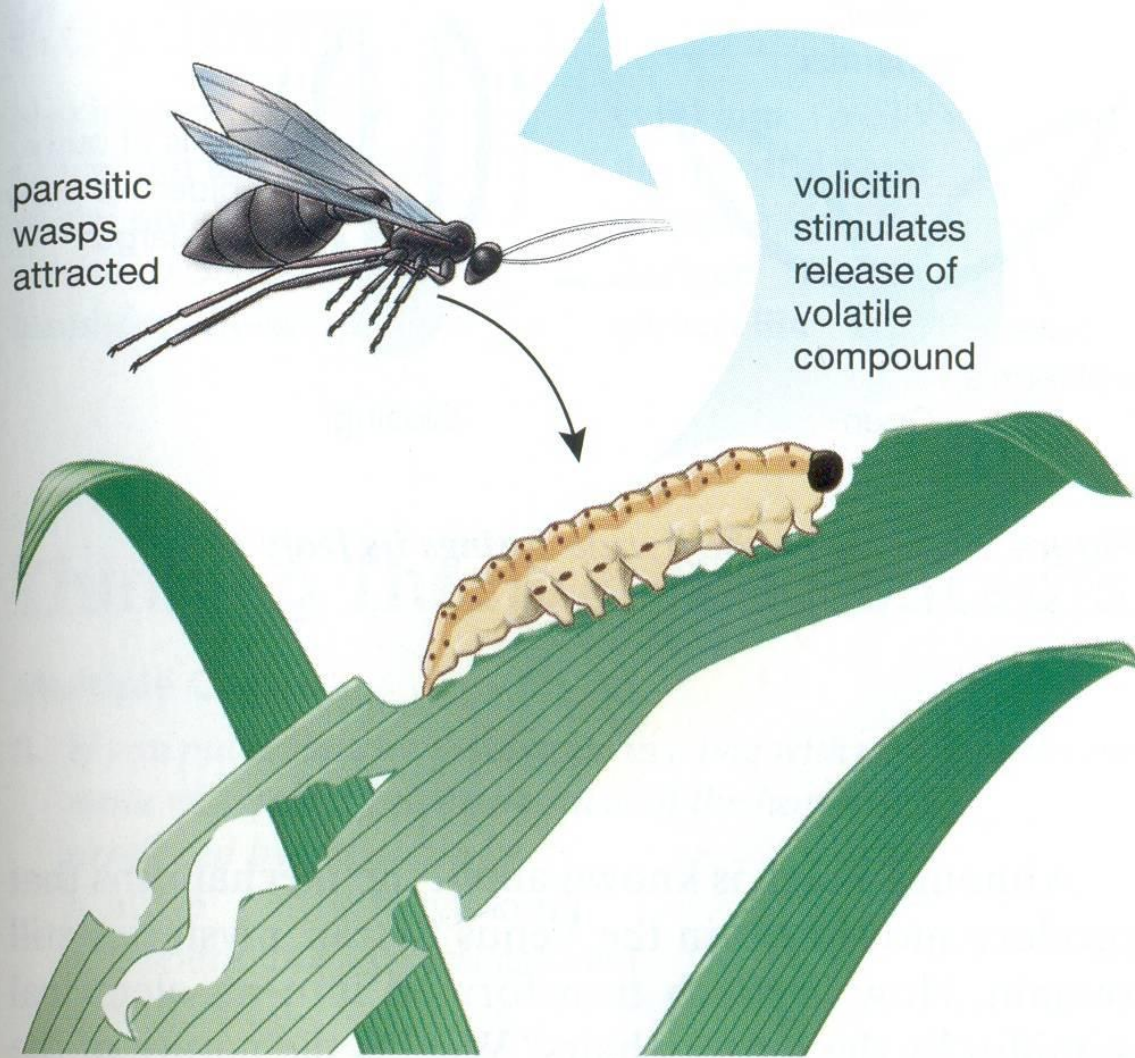
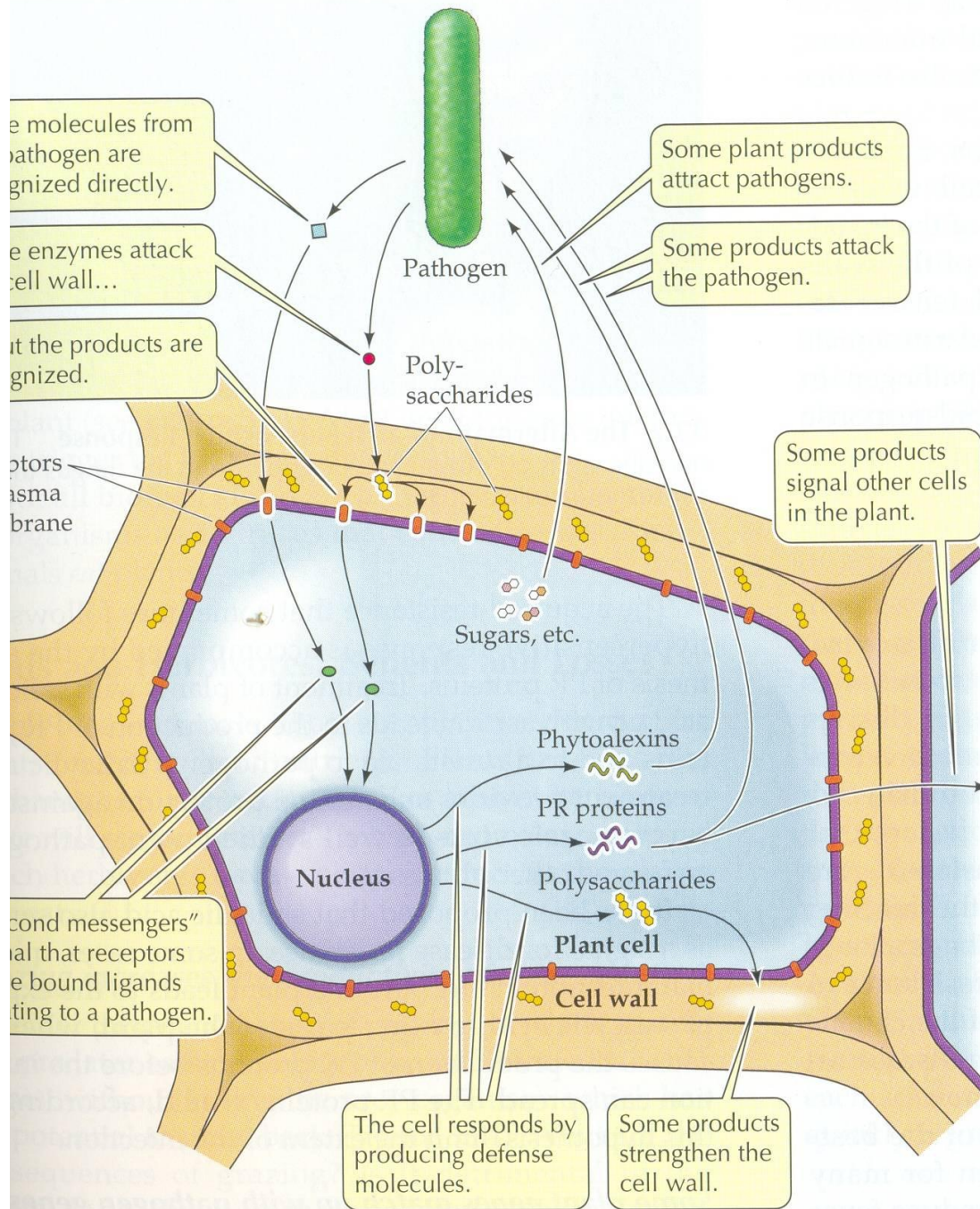


Figure 25-12 *A chemical cry for help*

Some plants that are attacked by caterpillars respond to a substance in the caterpillars' saliva by releasing volatile compounds that attract parasitic wasps. These wasps ultimately destroy the caterpillars by laying eggs inside the caterpillars' bodies.



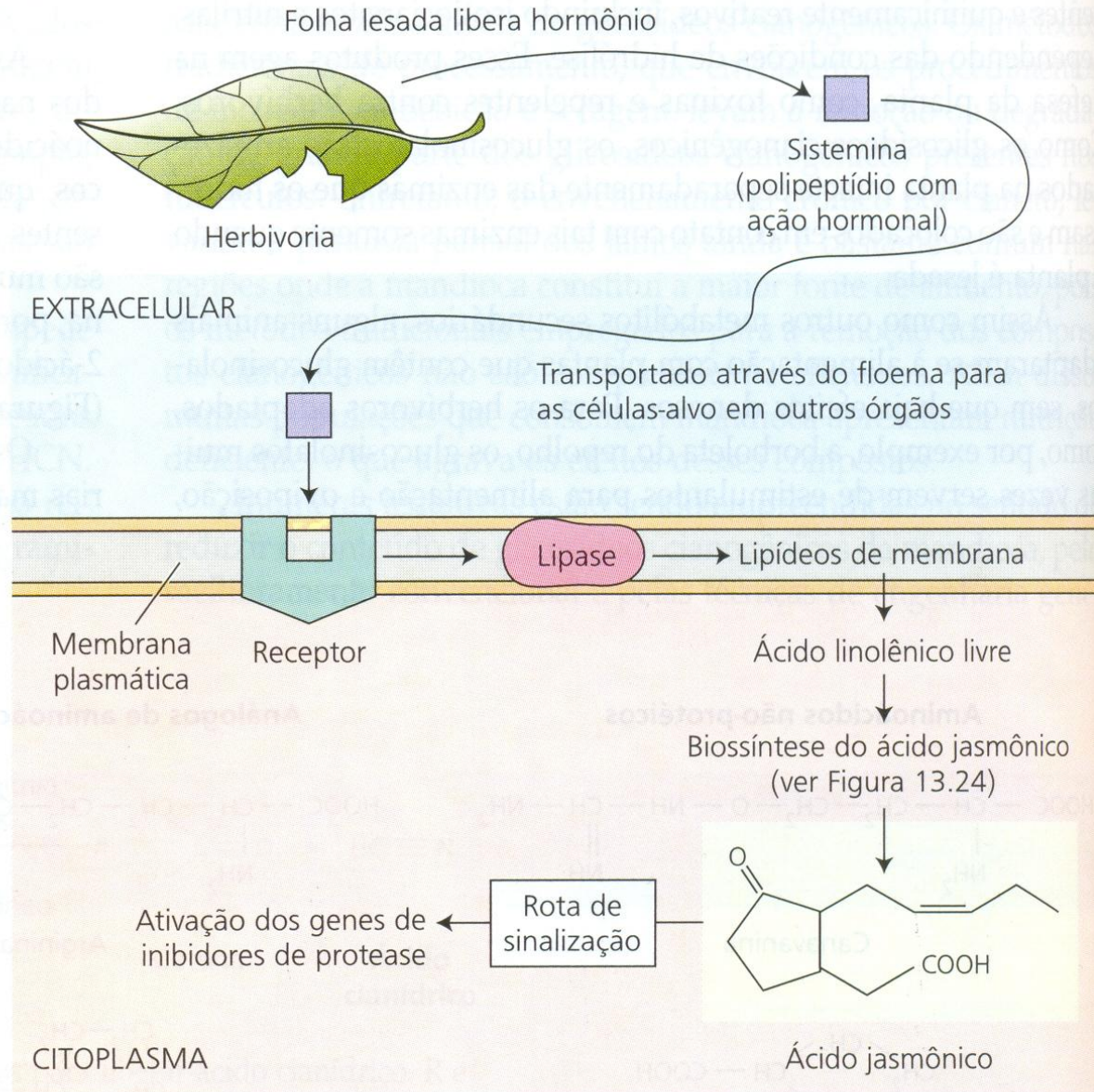


FIGURA 13.23 Rota de sinalização proposta para a rápida indução da biossíntese de inibidor de protease em plantas lesadas de tomateiro.



RICARDO FERRAZ DE OLIVEIRA, Ph.D
*Professor Associado do Departamento de
Ciências Biológicas da ESALQ-USP*
Tel. (19) 3429-4458
E-mail: rfolivei@esalq.usp.br

Formação: Bacharel em Engenharia Agrônômica pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” em 1984; Mestrado em Fisiologia de Plantas pela Texas A&M University em 1989; Doutorado em Agronomia pela Texas A&M University em 1994.

Áreas de Atuação: Fisiologia de plantas sob condições de estresse hídrico, salino e térmico. Determinação de trocas gasosas em plantas e Instrumentação em Fisiologia Vegetal.

