

# INTRODUÇÃO AO ESTUDO DA PERMEABILIDADE DA MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

ANTONIA LÉLIA G. PICCOLO

Departamento de Botânica

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro, SP.

A célula vegetal possui além da membrana inerte, duas membranas citoplasmáticas, o plasmalema e o tonoplasto, que regulam a permeabilidade. O plasmalema e permeabilidade seletiva estão intimamente ligados, pois a permeabilidade celular é determinada pela composição química e características físicas dessa membrana. A passagem de substância através das membranas desempenha um papel importante, capacitando a célula a manter uma composição química aproximadamente uniforme num ambiente químico amplamente variável. A característica fundamental de tal mecanismo regulatório torna-se óbvia, quando consideramos que a célula pode viver só se certos materiais movem livremente, entrando e saindo da célula, enquanto que outros são retidos ou até concentrados no seu interior. Diferentes tipos de estudo têm tornado claro, que a habilidade das células para controlar estas condições é devida, ao menos em parte, à presença da membrana superficial citoplasmática; mas, as propriedades físicas e químicas dessas membranas, tão bem como os mecanismos controlando a passagem das substâncias através dela, não são ainda bem compreendidos.

O conhecimento sobre a estrutura da membrana plasmática foi baseado, durante muito tempo, em trabalhos experimentais. Como muito fecunda revelou-se a teoria de DANIELLI (1943) que é a mais aceita até hoje. Segundo essa teoria, a membrana plasmática é formada por duas camadas monomoleculares de fosfolípidos, polares, possuindo um polo hidrofóbico e outro hidrofílico. Mais tarde DANIELLI (1952), admitiu a existência de poros na membrana, o que pode ser devido a invaginação da própria membrana

Com o advento dos resultados da microscopia eletrônica imaginou ROBERTSON (1959) o conceito da "unit membrane", que é uma transformação e aplicação da teoria de DANIELLI, para a explicação das estruturas de todas as membranas celulares. Observou-se que as membranas celulares são compostas de duas camadas densas de 20 A separadas por uma zona transparente de 35 A. Robertson sugeriu que as duas camadas densas representam os grupos polares dos fosfolipídeos, nos quais se fixa por adsorção, um filme proteico. A zona transparente corresponde aos grupos apolares das duas camadas monomoleculares de fosfolipídeos (fig. n. 1).

### ESTRUTURA MOLECULAR "UNIT MEMBRANE"

DE ACÓRDO COM ROBERTSON

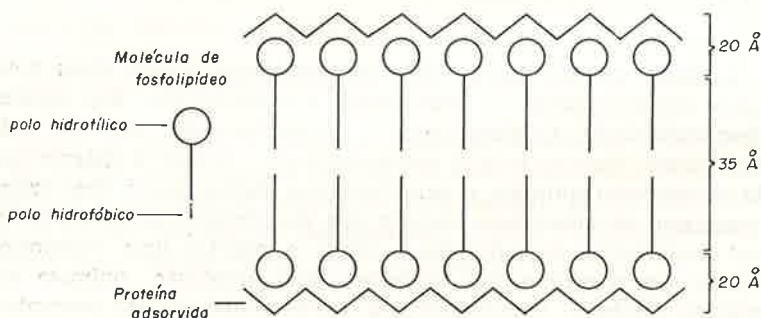


Fig. n. 1. Esquema da estrutura molecular da membrana plasmática, de acôrdo com a teoria da "unit membrane" de Robertson

Recentemente, os trabalhos com microscopia eletrônica têm, aparentemente, comprovado essa hipótese. Assim BUVAT (1968, 1963) trabalhando com *Elodea*, e GRUN (1963), com raiz jovem de *Solanum*, encontraram uma estrutura que pode ser classificada como "unit membrane". Também, THOMSON (1966), observando a ultra-estrutura do plasmalema em laranjas, verificou que a membrana é assimétrica, sendo a camada exterior mais espessa (40 A). do que a interior (30 A). A zona compreendida entre as duas camadas densas apresenta-se transparente e descontínua. Pontes pequenas, opacas, atravessam a zona luminosa em intervalos regulares, fazendo a ligação entre essas camadas. Provavelmente, nessas re-

giões, a membrana é composta de pequenas sub-unidades; sabemos que uma estrutura composta de dois filmes monomoleculares, é um sistema facilmente modificável, podendo acarretar formação de sub-unidades. Mas até que outras investigações sejam feitas, a hipótese da estruturação do plasmalema em sub-unidades não é geralmente aceita. A estruturação em sub-unidades poderia ser relacionada com a presença de poros na membrana.

Num dos simpósios sobre aspectos gerais de membranologia, realizado em março de 1967, em Ste. Marguerite, Canadá, ROBERTSON discutiu o seu conceito da "unit membrane": as membranas biológicas são formadas por duas camadas lipídicas, com as cadeias carbônicas, não polares, no centro da membrana, e os extremos polares voltados para fora. As superfícies polares são cobertas por filmes unimoleculares não lipídicos. A superfície exterior difere quimicamente da interior e assim a membrana é uma estrutura quimicamente assimétrica. ROBERTSON deu ênfase especial aos problemas de sub-estrutura da membrana. Foram debatidos diversos outros problemas, entre eles, modelos de fosfolípeos formam membranas exibindo permeabilidade diferencial para cátions e ânions; troca por difusão pode ocorrer; a presença de  $Ca^{++}$  pode ter efeito crítico sobre a permeabilidade dessas membranas.

Com respeito às regras que regulam a entrada e saída das substâncias químicas das células vegetais, podemos distinguir dois grupos: eletrólitos e não eletrólitos. As substâncias eletrolíticas não seguem as simples leis de difusão ao penetrar nas células, mas podem ser absorvidas individualmente por meio da permeabilidade chamada ativa, a custa do ATP celular. Os não eletrólitos, penetram geralmente na célula vegetal por simples difusão; as membranas plasmáticas atuam neste caso como barreiras que diminuem a velocidade da penetração.

A água pertence ao grupo dos não eletrólitos com um diâmetro molecular de cerca de 2 Å; e a sua entrada ou saída de uma célula se faz por meio de difusão das moléculas, através de poros, ou por entre os filmes monomoleculares. Um transporte ativo de água através das membranas não foi provado até hoje. Sabemos que os lípeos que constituem a membrana, não impedem a passagem da água. As moléculas dos fosfolípeos se afastam e se unem, devido ao seu movimento térmico, permitindo assim a passagem das moléculas de água. Foi observado por LEVITT (1956), que substâncias com peso molecular menor que 60, podem atravessar as membranas, embora não sejam solúveis em lípeos.

Já foi constatado inúmeras vezes que a água pode atravessar o plasmalema, em ambos os sentidos, com relativa facilidade; entretanto, existe uma série de fatores que influenciam a sua permeabilidade, tais como: carga elétrica da membrana, presença de outros íons, idade da célula, luz, temperatura, etc. MAXIMOV & MOZHAJEVA (1944) observaram que o protoplasma de células jovens e senescentes é mais permeável para água e sais, do que o de células adultas.

O efeito de sais sobre a permeabilidade à água tem sido extensivamente estudado. Alguns dos importantes trabalhos sobre o assunto são de OSTERHOUT (1922), BROOKS (1941), DAVSON & DANIELLI (1952), HEILBRUNN (1952). Os autores concluíram que o efeito geral de sais com cátions monovalentes, é aumentar a permeabilidade (diminui a resistência), enquanto que os sais com cátions de valência mais alta, diminuem a permeabilidade (aumenta a resistência). Nesses trabalhos, foram mais estudados os íons pronunciadamente antagônicos, principalmente os dos  $K^+$  e  $Ca^{++}$ .

HOEBER (1945) e HEILBRUNN (1952), resumiram, sobre o assunto, uma grande parte da vastíssima bibliografia da fisiologia geral, verificando, que de um modo geral,  $Ca^{++}$  diminui e  $K^+$  aumenta a permeabilidade. Mais tarde, FISCHER (1956), citou um grande número de trabalhos sobre os efeitos do  $Ca^{++}$  e  $K^+$  na superfície do citoplasma da célula vegetal,  $Ca^{++}$  diminuindo e  $K^+$  aumentando, de modo geral, a permeabilidade para a água. GUTTENBERG & BEYTHIEN (1951), observaram que soluções de  $CaCl_2$  diminuem a permeabilidade, enquanto que soluções de  $KCl$  aumentam-na. Mas uma mistura de ambos não produz efeito. HOPE & WALKER (1961), trabalhando com *Chara*, mostraram que a resistência e potencial da membrana são grandemente dependentes da concentração dos íons no meio externo, particularmente o  $K$ : a resistência e magnitude do potencial caem, conforme a concentração do  $K^+$  aumenta, indicando um aumento da permeabilidade da membrana. O íon  $Ca^{++}$  produziu efeito contrário. WAISEL (1962), trabalhando com raiz de cevada, demonstrou que íons bivalentes, como  $Ca^{++}$  e  $Mg^{++}$ , diminuem a permeabilidade seletiva da membrana exterior do citoplasma.

As transformações que ocorrem entre diferentes estados sub-estruturais das membranas, geralmente são feitas por deslocamentos catiônicos, envolvendo, principalmente, cátions monovalentes e divalentes; assim os filmes de fosfolipídeos podem ser alterados, quando os radicais se ligam a cátions, como  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{K}^+$ . Esta hipótese pode ser esquematizada da maneira ilustrada pela figura n. 2.

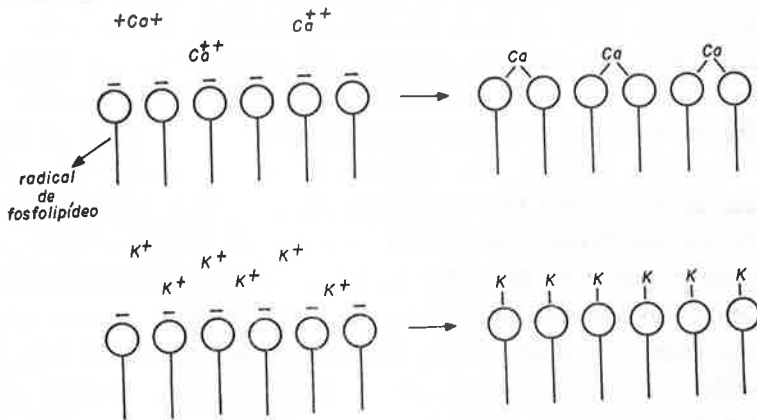


Fig. n. 2. Hipótese da alteração de estrutura da membrana, pela ligação dos radicais de fosfolipídeos, a íons monovalentes, como o  $\text{K}^+$ , e bivalentes, como o  $\text{Ca}^{++}$

A  $\text{Ca}$ -membrana é estabilizada mecânica-mente, devido a ação de "pinça" dos íons  $\text{Ca}^{++}$ ; é insolúvel, isto é, pouco dissociada, e assim, menos hidrófila. A  $\text{K}$ -membrana é dissociada, hidrófila, instável, sofrendo os grupos polares repulsão eletrostática entre si. Estas propriedades causam maior permeabilidade passiva da  $\text{K}$ -membrana e menor da  $\text{Ca}$ -membrana.

O efeito dos íons sobre a permeabilidade foi relacionado com o efeito do ácido etileno-diamino-tetraacético (EDTA), e da auxina, ácido indolil-3-acético (IAA), com o efeito dos íons bivalentes, principalmente do  $\text{Ca}^{++}$ . De acordo com a nossa hipótese, toda célula tratada com EDTA, ficaria com uma quantidade reduzida de  $\text{Ca}^{++}$  na membrana; os lugares ocupados por esses íons na membrana, seriam substituídos pelo  $\text{K}^+$  vindo do interior da célula, onde existe em grande quantidade. Essa substituição aumentaria a permeabilidade da célula.

Uma revisão da literatura mostrou que as auxinas produzem mudanças na absorção de vários materiais, inclusive da água, pelas células vegetais. Isso levou muitos investigadores a propor efeitos diretos da auxina sobre a membrana, como o seu modo principal de

ação: o primeiro deles foi BUNGENBERG DE JONG (1935, 1937). Mais tarde, REINDERS (1938, 1942), e COMMONER & MAZIA (1942), observaram que as auxinas aumentam a absorção de água, por certas espécies de tecidos vegetais, e VELDSTRA (1947, 1949), e BRIAN & RIDEAL (1952), reafirmaram a hipótese acima, sem contudo explicarem a causa de tal aumento na absorção da água. O IAA poderia atuar de modo semelhante ao EDTA, quelando  $\text{Ca}^{++}$  de modo indireto, como foi proposto por BENNET-CLARK (1956). Sabemos que o IAA provoca vários efeitos numa célula: aumenta a respiração, aumenta a síntese de ácido ribonucleico (RNA), a síntese de ácidos pécticos, etc. Algumas dessas substâncias são queladoras de íons, como  $\text{Ca}^{++}$ ; podem retirar o  $\text{Ca}^{++}$  das suas ligações na membrana, alterando a estrutura da mesma e o  $\text{Ca}^{++}$  continua a existir no ambiente na forma de outros compostos. Na literatura são encontrados alguns trabalhos onde se observa uma relação entre IAA e Ca. Assim BENNET-CLARK (1956), COOIL & BONNER (1957), observaram que concentrações relativamente altas de  $\text{Ca}^{++}$ , inibem fortemente o crescimento de segmentos de coleptila, enquanto  $\text{K}^+$  a aumenta.

#### ABSTRACT

The present paper is a study of the antagonistic effects of the  $\text{K}$  and  $\text{Ca}$  ions, ethylene-diamine-tetra-acetic acid (EDTA) and indole-3-acetic acid (IAA) on the permeability of the plasmalemma.

#### LITERATURA CITADA

- BENNET-CLARK, T. A., 1956 — A hypothesis on salt accumulation and the mode of action of auxin. In: The chemistry and Mode of Action and Plant Growth Substances. R. L. Wain and Wightman, eds, pp. 284-94.
- BRIAN, R. C. & E. K. RIDEAL, 1941 — On the action of plant growth regulators. *Biochim. et Biophys. Acta* 9: 1-18.

- BROOKS, S. C. & M. M. BROOKS, 1941 — The permeability of living cells. **Protoplasma Monogr.** 19.
- BUNGENBERG DE JONG, H. G. & J. BORMER, 1935 — **Protoplasma** 28: 198-218.
- BUNGENBERG DE JONG, H. G. & G. G. P. SAUBERT, 1937 — **Protoplasma** 28: 352-359.
- BUVAT, R., 1963 — **Intern. Rev. Cytol.** 14: 41.
- BUVAT, R., 1958 — **Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veget.** 11: 122.
- COMMONER, B. & D. MAZIA, 1958 — The mechanism of auxin action. **Plant Physiol.** 17: 682-685.
- COOIL, B. J. & J. BONNER, 1957 — The nature of growth inhibition by calcium in the *Avena* coleoptile. **Planta** 48: 696-723.
- DANIELLI, J. F. & H. DAVSON, 1943 — The permeability of natural membranes, 361 pp., The Macmillan Co. New York.
- DANIELLI, J. F., 1952 — Structural factors in cell permeability and secretion. **Symp. Soc. Exp. Biol.** n. 6, 1-15.
- DAVSON, H., 1951 — **A textbook of General Physiology.** The Blackiston Co., Philadelphia.
- FISCHER, H., 1956 — Ionenwirkungen. **Encyclopedia of Plant Physiol.** Vol. II: 706-740.
- GRUN, P. J., 1963 — **Ultrastruct. Res.** 9: 198.
- GUTTENBERG, H. VON & A. BEYTHIEN, 1951 — Ueber den Einfluss von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. **Planta** 40: 36-69.
- HEILBRUN, L. V., 1956 — **An outline of General Physiology.** 3rd Ed.. Philadelphia.
- HOEBER, R., 1945 — **Physical chemistry of cells and tissues** Blackiston, Philadelphia.
- HOPE, A. B. & N. A. WALKER, 1961 — **Australian J. Biol. Sci.** 14: 26-44.

- LEVITI, J., 1956 — **The hardness of plants**, New York, Academic Press.
- MAXIMOV, N. A. & L. V. MOZHAEVA, 1944 — Age variations of colloid chemical properties of protoplasm in vegetable cells. **Compt. Redn. (Doklady). Acad. Sci. URSS.** 42: 277-80.
- OSTERHOUT, W. J. V., 1922 — Some aspects of selective absorption. **J. Gen. Physiol.** 5: 225-231.
- REINDERS, D. E., 1938 — The process of water-intake by discs of potato tuber tissue. **Proc. Roy. Acad. Sci. Amsterdam** 41: 820-831.
- REINDERS, D. E., 1942 — Intake of water by parenchymatic tissue. **Rec. Trav. Bot. Neerl.** 39: 1-140.
- ROBERTSON, J. D., 1959 — The ultrastructure of cell membranes, and their derivatives. **Biochem. Soc. Symp. (Cambridge). Engl.** 16: 3-43.
- THOMSON, W. W., 1966 — Observation on the ultrastructure of the plasmalemma in Oranges. **J. Ultrastructure Res.** 16: 640.
- VELDSTRA, H., 1947 — Considerations on the interactions of ergosterol and their substrates. **Biochim. Biophys. Acta.** 1: 364-78
- VELDSTRA, H., 1949 — On the relation structure activity with plant growth regulators. **Proc. 2nd Int. Congr. Pl. Proto.**
- WASEL, J., 1962 — The effect of Ca on the uptake of monovalent ions by excised barley roots. **Physiol. Plantarum** 15 (4): 709-724.

